

Salud humana y xenobióticos animales

BERNABÉ SANZ PÉREZ

Catedrático de la Universidad Complutense de Madrid

Y

PASCUAL LOPEZ LORENZO

Catedrático de la Universidad de Zaragoza

INTRODUCCIÓN

El gran desarrollo alcanzado en las últimas décadas por la producción animal de los países industrializados ha ido paralelo con los avances y logros conseguidos por las ciencias que le sirven de base (Biología molecular, Genética, Fisiología, Farmacología, Nutrición, Bioinformática y otras). Gracias a ellos la industria animal cuenta actualmente con una tecnología inimaginable en la ganadería de mediados del siglo pasado.

En los países miembros de la UE cada año son más los animales explotados en régimen intensivo o semiintensivo. La mayor densidad de animales por explotación que ello conlleva, ha ido acompañada de una disminución del número de granjas o explotaciones pero no de los rendimientos por animal (carne, leche, y huevos) que han seguido creciendo. Ello ha sido posible gracias a cinco factores fundamentales:

1. La selección de razas sarcopoyéticas y lecheras genéticamente mejoradas.
2. Un mejor control de las enfermedades animales.
3. La disponibilidad de mejores piensos y de técnicas de racionamiento por ordenador.
4. Mejores alojamientos animales y técnicas de manejo animal más racionales.

5. Empleo de productos farmacológicos y promotores del crecimiento, tanto naturales como xenobióticos.

Otro factor que ha influido mucho en la moderna producción animal ha sido el creciente rechazo de la grasa de la dieta humana por un sector importante de la población de los países desarrollados que demanda alimentos magros o sin grasa, en unos casos por la mala prensa de la última a la que considera responsable de ciertas enfermedades degenerativas y cardiovasculares, y en otros porque la moda impone el mimetismo de la belleza y esbeltez de los modelos de pasarela. De otra parte la mayoría de los consumidores siguen demandando carnes tiernas, jugosas, magras y rosadas.

Han sido, pues, las demandas de los consumidores que siempre trata de satisfacer la industria alimentaria y sobre todo la búsqueda, por parte de los ganaderos, de mayores beneficios con la misma inversión y actividad laboral, lo que ha llevado al empleo de muchos productos químicos en alimentación animal.

RESIDUOS

Es bien sabido que los xenobióticos cuando penetran en el organismo animal se reparten por sus tejidos, en donde dan lugar a residuos del producto administrado o de sus metabolitos que terminan incorporándose al organismo humano vía los alimentos. En la *tabla I* se muestran los principales residuos de xenobióticos de los alimentos de origen animal.

TABLA 1

PRINCIPALES RESIDUOS DE XENOBIÓTICOS EN LOS ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

1. Medicamentosos.
 - Antiparasitarios internos y externos
 - Antibióticos
 - Atarácicos o tranquilizantes

SALUD HUMANA Y XENOBIÓTICOS ANIMALES

- Otros (sulfonamidas, nitrofuranos, etc.).
- 2. Promotores del crecimiento.
 - Compuestos hormonales
 - Antitiroideos
 - Hormona del crecimiento
 - Hormonas sexuales.
 - Agentes de reparto (agonistas β -adrenérgicos).
- 3. Sincronizadores del celo.
- 4. Aditivos de los piensos.
- 5. Radionúclidos.
- 6. Otros varios.
 - Plaguicidas
 - Metales pesados
 - Difenilos policlorados
 - Hidrocarburos aromáticos policíclicos, etc.

Del enorme arsenal de xenobióticos utilizados en las prácticas agraria y ganadera aquí trataremos únicamente de los que se aplican a los animales de granja como promotores del crecimiento. A los lectores interesados en otros xenobióticos les recomendamos las revisiones de Potthast (1993), NRC (1994) , y García y col. (1997).

ANTIBIÓTICOS COMO PROMOTORES DEL CRECIMIENTO

En medicina humana los antibióticos se utilizan exclusivamente con fines terapéuticos; en cambio en los animales de abasto se emplean, además, como promotores del crecimiento (Schwarz y col. 2001). En ocasiones se usan también como profilácticos antiinfecciosos (intervenciones quirúrgicas, transporte animal, destete de lechones, comienzo del periodo seco de las vacas lecheras, etc.). Sin embargo, la última aplicación ha sido muy criticada

por su contribución a la posible aparición en la leche de bacterias resistentes y a la difusión de genes de resistencia.

El empleo de los antibióticos con fines terapéuticos, profilácticos y como promotores del crecimiento ha creado una serie de problemas de salud pública como:

- Cambios de la flora intestinal humana y consecuentemente presencia de disbiosis que pueden ser graves en personas especialmente sensibles (Tannock, 1988).
- Fenómenos alérgicos en individuos predispuestos a esta patología (Steele y Beran, 1984).
- Desarrollo de cepas bacterianas antibiótico resistentes (Levy, 1987).
- Destrucción o inhibición de microorganismos tecnológicamente importantes (cultivos iniciadores) (Wilson, 1994).
- Posible aparición de nuevos tipos de alteración alimentaria al destruirse los microorganismos responsables de la “alteración normal” y ser sustituidos por una microflora distinta (Sanz, 1998).

Desde 1975, cuando en Europa comunitaria se prohíbe el empleo de los antibióticos β -lactámicos como promotores del crecimiento, a pesar de estar permitidos en EEUU y hasta 1999, año en el que los antibióticos autorizados como promotores del crecimiento se redujo a cuatro (flavofosfolipol, monensina sódica, salinomicina sódica y avilamucina), la resistencia bacteriana a consecuencia del empleo de estos antimicrobianos como promotores del crecimiento ha disminuido mucho. Sin embargo, su empleo fraudulento todavía podría tener graves consecuencias.

Para evitar los posibles problemas derivados de la presencia de residuos de antibióticos en las canales de los animales de abasto y para garantizar su seguridad sanitaria se ha revisado la legislación alimentaria de la UE. Antes de autorizar el empleo de antibióticos como promotores del crecimiento debe establecerse su “nivel de residuos máximo (MRL)” que es “el nivel de residuo máximo aceptable en las canales que no causa ningún efecto perjudicial en salud pública” (Woodward, 1993). En los experimentos toxicológicos y microbiológicos este “nivel sin efecto observable (NOEL)” es la dosis por debajo de la cual no se presentan efectos adversos.

Tres han sido las razones principales que han llevado a la UE a fijar los límites máximos de residuos de fármacos veterinarios permitidos:

- Como garantía de seguridad de los alimentos de origen animal.
- Como base para establecer los periodos de suspensión o retirada de los medicamentos.
- Como norma para supervisar los residuos y el comercio de los alimentos.

Los antibióticos que se emplean con fines terapéuticos en medicina humana y animal son los mismos pero hay ciertas particularidades que determinan los que deben utilizarse en veterinaria (Schwarz y Chaslus-Dancla, 2001):

- 1º) En medicina veterinaria siempre debe tenerse muy en cuenta el coste del tratamiento. Razones económicas determinan que ciertas estructuras antibióticas “viejas”, como penicilinas y tetraciclinas, sigan utilizándose mucho. En 1997 los tres tipos de antibióticos más empleados fueron tetraciclinas, macrólidos y penicilinas.
- 2º) Ciertos antibióticos, como las cefalosporinas, están infrautilizadas en veterinaria en comparación con su empleo en medicina humana.
- 3º) En las últimas décadas se han incorporado muy pocas moléculas antibióticas al arsenal terapéutico veterinario, entre ellas tiamulina, florfenicol, y fluoroquinolonas. El ácido nalidíxico solo se emplea per os en Italia, España y Portugal, en cambio el oxolínico y la flumequina se usan en toda Europa, salvo en Alemania. La sarafloxacin, utilizada en los peces, solo la emplean en Irlanda y el Reino Unido.
- 4º) Ciertos antibióticos como apramacina, florfenicol, tilosina, timilcosina y tiamulina únicamente se emplean en veterinaria.
- 5º) Moléculas de reciente introducción en medicina humana todavía no lo han sido en veterinaria y tardarán en hacerlo, piénsese que las cefalosporinas de tercera generación (amicacina y minocilina) todavía no se emplean en clínica de grandes animales. Otras, como quetólidos, glicilciclinas y oxazolidonas se reservan exclusivamente para terapéutica humana.

ORIGEN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA

El organismo animal constituye un medio favorable para el desarrollo microbiano. Las bacterias que se encuentran en cualquier región corporal de un animal sano, por ejemplo el intestino, constituyen la *flora normal* de la que forman parte microorganismos simbióticos, comensalistas y oportunistas (Wray, 1986). Una gran parte de la flora intestinal es incultivable por lo que el conocimiento de las especies bacterianas que la constituyen es todavía bastante deficiente (SØrum y Sunde, 2001). De aquí que sea muy poco y fragmentario lo que se sabe de sus relaciones y equilibrio ecológico. Se conoce, no obstante, que la microbiota intestinal normal varía con la especie animal, la alimentación recibida y las condiciones de alojamiento de los animales, entre las que destaca la densidad de población.

El empleo de los antibióticos como promotores del crecimiento ha sido muy controvertido debido al posible desarrollo de resistencias bacterianas a los mismos. En 1969 el informe Swann recomendaba en el RU que el empleo de los antimicrobianos, como promotores, debería realizarse con mucha prudencia para evitar que surgieran bacterias resistentes (Anónimo, 1969). El ejemplo más llamativo del efecto secundario perjudicial de los promotores antimicrobianos fue el desarrollo de resistencia a la vancomicina, en los enterococos de pollos tratados con pienso que contenía avoporcina. El empleo como promotor del crecimiento de este antibiótico ha sido prohibido en la UE desde 1997.

Los primeros antibióticos conocidos procedían, en gran parte, de mohos y bacterias del suelo por lo que antes de su utilización clínica muchos microorganismos ya se habrían enfrentado a ellos en su medio natural. Por tanto, es posible que las bacterias ya desarrollasen entonces algún tipo de resistencia frente a los antibióticos. Tres son los mecanismos principales de los que se sirven las bacterias para desarrollar resistencia frente a los antibióticos:

1. Adquiriendo genes de resistencia de las propias bacterias productoras de antimicrobianos y modificándolos para optimizar su funcionalidad en su nuevo microorganismo hospedador. Los microorganismos productores de antibióticos albergan genes de resistencia como mecanismo autodefensivo frente a sus propios

productos; generalmente se localizan en el ADN cromosómico. Por tanto, su difusión a otras bacterias implica la incorporación de estos genes en elementos genéticos móviles, como plásmidos y transposones; ambos se han detectado en bacterias de la “era pre-antibiótica” aisladas del entorno. Cuando los genes de resistencia se transfieren a las especies y géneros bacterianos próximos pueden sufrir mutaciones en sus nuevos hospedadores, lo que da lugar a una gran variedad de determinantes de resistencia, estructuralmente heterogéneos pero funcionalmente homogéneos. Como ejemplo de esta evolución tan divergente a partir de un ancestro común pueden citarse las salidas o “eflujos” del citosol, de proteínas asociadas con la resistencia a la tetraciclina de las bacterias Gram positivas y Gram negativas (Roberts, 1996).

2. Desarrollando genes de resistencia mediante una mutación multifásica de los genes que desempeñan alguna función en el metabolismo celular. Como resultado se modifican los genes, de forma que los sustratos de sus productos son, en vez de los metabolitos de las rutas biosintéticas o biodegradativas, solo ciertos agentes antimicrobianos. Se piensa (Davies, 1997) que ha sido así como se han desarrollado las enzimas implicadas en la inactivación de los aminoglucósidos y del cloranfenicol, esto es, las acetiltransferasa, adeniltransferasa y fosfotransferasa.
3. Modificando sus estructuras diana mediante una mutación monofásica (resistencia a la estreptomycin) o mediante mutaciones multifásicas (resistencia a la fluoroquinolona), con lo que se convierten en resistentes a los efectos inhibitorios de sus respectivos antibióticos (Aleksun y Levy, 2000).

La introducción de nuevos antibióticos en clínica humana y animal se acompaña o va seguida de la aparición de bacterias resistentes a los mismos, lo que resalta su gran capacidad para responder pronto y eficazmente a la presión selectiva ejercida por los nuevos antibióticos. En los últimos años se ha visto que las bacterias también desarrollan resistencia frente a los productos sintéticos que carecen de análogos naturales. Así se pone de manifiesto la capacidad bacteriana para sobrevivir en ambientes de condiciones distintas e incluso en presencia de sustancias tóxicas como los antimicrobianos

(Bennett, 1995). El intercambio de genes de resistencia entre los miembros de una población bacteriana acelera mucho su difusión, tanto entre las bacterias patógenas como entre las comensales inocuas.

La aparición de bacterias antibiótico-resistentes, lo mismo en la flora intestinal normal que en la microbiota de las canales de los animales de abasto, a los que se les administraron antibióticos con el pienso, subrayan la importancia de los alimentos de origen animal en la difusión de bacterias resistentes a los antibióticos y en la transferencia de los genes correspondientes a la especie humana. Van der Waaij y Nord (2000) sugieren que la flora bacteriana normal del intestino posee, además de genes de resistencia, cierta capacidad destructiva de los antibióticos. Esta propiedad podría ser uno de los factores de resistencia a la colonización intestinal por otras bacterias. De aquí que SØrum y Sunde (2000) hipoteticen que la flora intestinal, resistente a los antibióticos, podría frenar la invasión de bacterias patógenas gracias a esa “resistencia a la invasión” incluso en animales que hubieran recibido antibióticos por cualquier otra causa. De todas formas se necesitan más investigaciones para aclarar el posible protagonismo de la microbiota intestinal normal en el mantenimiento de la homeostasis entérica.

El desarrollo de resistencia microbiana y su transferencia a otras bacterias ha sido tratado, entre otros, por Hackbarth y Chambers (1989), Georgopapadokou (1993), Bager y Helmuth (2001), Carattuli (2001) y Schwarz y Chaslus-Dancla (2001).

Productos alimenticios y antibióticos.

El empleo de antibióticos en terapéutica veterinaria se hará siempre bajo control veterinario y solo cuando sean realmente necesarios. En sus envases y prospectos deberían figurar siempre los tiempos de suspensión o retirada que deben cumplirse con gran meticulosidad. Los antibióticos de tratamiento mamario deberían llevar un colorante que denunciase su presencia en la leche. Los antibióticos promotores del crecimiento responden mejor en los animales sometidos a malas condiciones higiénicas, por lo que su mejora hace innecesario el empleo de estos antimicrobianos. De aquí que se haya restringido su empleo a los que no se absorben o bien se metabolizan rápi-

damente sin dejar residuos; se procurará que sean distintos de los utilizados corrientemente en terapéutica humana.

Al estudiar los efectos del calor en la actividad de los antibióticos se ha comprobado que el procesado culinario corriente no inactiva ni a los residuos de los antibióticos más termolábiles. Sin embargo, el tratamiento esterilizante de los alimentos enlatados sí que los inactiva, salvo en los casos de la neomicina y de la estreptomicina (Moats, 1988).

COMPUESTOS HORMONALES

Los compuestos hormonales anabolizantes ejercen un efecto manifiesto en el metabolismo ya que aumentan las funciones anabólicas (sintéticas) en detrimento de las catabólicas, lo que se traduce en un mejor desarrollo animal (Hoffman y Evers, 1986). Esto se debe al aumento de la retención de nitrógeno (balance positivo) y a que la *ratio* de los nutrientes del pienso retenidos en el organismo, por una parte, y de los excretados, por otra, se modifica a favor de los primeros; en consecuencia, aumenta el peso de los animales y también la ganancia ponderal por kg de pienso consumido. El mecanismo íntimo de acción de los agentes anabolizantes hormonales varía de unos a otros. Por ejemplo, los andrógenos actúan directamente en las fibras musculares uniéndose a sus receptores, mientras que la acción de los estrógenos es de tipo general al estimular la síntesis proteica; también se piensa que estimulan el hipotálamo y la prehipófisis aumentando en ésta la secreción de hormona del crecimiento (Roche, 1983).

Las principales hormonas anabolizantes se muestran en la *tabla 2*

Antitiroideos

Son sustancias que inhiben la síntesis de hormona tiroidea (tiroxina). Se administran mezclados con el pienso durante 40 días antes del sacrificio de los animales, por ello se conocen vulgarmente como “finalizadores cárnicos”.

TABLA 2
Hormonas y sustancias análogas empleadas como promotores del crecimiento

Grupo	Ejemplos
- Esteroides naturales: <ul style="list-style-type: none"> • Andrógenos • Estrógenos • Progestágenos 	Testosterona y sus ésteres. 17-β-estradiol y sus ésteres. Progesterona.
- Esteroides sintéticos: <ul style="list-style-type: none"> • Con acción androgénica • Con acción estrogénica • Con acción progestágena 	Metiltestosterona, trenbolona y su acetato. Estradiol (benzoato y monopalmitato). Acetato de melengestrol.
- Derivados del estilbено	Dietil estilbestrol (DES), Hexestrol (HEX) y Dienestrol.
- Hormona del crecimiento (HC) y sustancias afines	Somatotropina, liberadores de HC, Somatomedina, Somatostatina, Somatocrinina.
- Compuestos antitiroideos	Tiocianatos y tionamidas (tioureas)

Producen un síndrome de hipotiroidismo caracterizado por apatía, engrosamiento de la piel, edemas subcutáneos duros, retención de agua (mixe-dema), hipertrofia tiroidea y a veces cardiaca, debilidad muscular y un rápido aumento de peso.

El empleo de estas sustancias constituye un auténtico fraude ya que la ganancia ponderal se debe a la retención hídrica en los tejidos muscular y

subcutáneo y a un aumento de la grasa subcutánea (Martín y col. 1992). La utilización de antitiroideos como promotores del crecimiento animal está prohibida en la UE desde 1981 (Directiva 81/602/CEE; CEE, 1981). Afortunadamente su administración ilegal ha disminuido mucho en los últimos años gracias a los controles sistemáticos del peso del tiroides de los animales sospechosos, llevados a cabo en el matadero.

Hormonas del crecimiento o somatotropinas

Se trata de polipéptidos (de 190-199 aminoácidos) segregados por la hipófisis anterior que regulan importantes procesos metabólicos relacionados con el crecimiento y la lactación de los animales. Las técnicas de ingeniería genética han permitido producirla a gran escala por lo que se comercializa a un precio razonable (Hardin y col., 1995). Cuando se aplica a los animales aumenta en ellos la síntesis proteica y disminuye hasta un 80% la deposición grasa. Sus efectos últimos son una mayor retención de nitrógeno, mayor acreción muscular, mayor retención de calcio y fósforo, menor concentración de urea sanguínea, con menor excreción urinaria de esta sustancia.

Desde el punto de vista de la seguridad de sus residuos para la especie humana, conviene señalar que se trata de sustancias especie-específicas que se inactivan durante la digestión, debido a su naturaleza peptídica (García y col., 1997). En 1993 y tras numerosas pruebas toxicológicas, el gobierno de EEUU aprobó la comercialización de la leche procedente de vacas tratadas con somatotropina bovina, obtenida por ingeniería genética. No obstante, su empleo en los animales de abasto no se permite en los países de la UE (CEE, 1994).

Estrógenos

Son compuestos hormonales que inducen en el tracto reproductor femenino los cambios que acompañan al estro o celo animal. De acuerdo con esta definición, se consideran estrógenos a los compuestos esteroideos de 18 carbonos ya sean naturales (como el 17- β -estradiol) o sintéticos, (como el estradiol) y a los derivados del estilbeno (como el dietilestilbestrol), junto

con ciertas sustancias de origen fúngico y vegetal que tienen en común el provocar los cambios citados.

Estrógenos naturales.

Son las hormonas sexuales femeninas que tienen como núcleo estructural el anillo del ciclopentanoperhidrofenantreno. Se producen en los ovarios de todos los vertebrados y su principal representante es el 17β -estradiol. Sin embargo, este producto, no se utiliza independientemente como promotor del crecimiento sino combinado con los andrógenos y progestágenos.

El efecto de los estrógenos en el crecimiento y en el recambio proteico animal depende de muchos factores, como especie animal, edad y dosis administrada. Los rumiantes responden mejor que los monogástricos, aumentando muy pronto de peso al suministrarles estradiol, en cambio en la especie humana y en otras especies animales se inhibe el crecimiento (Debackere, 1989; Hancock y Wagner, 1991).

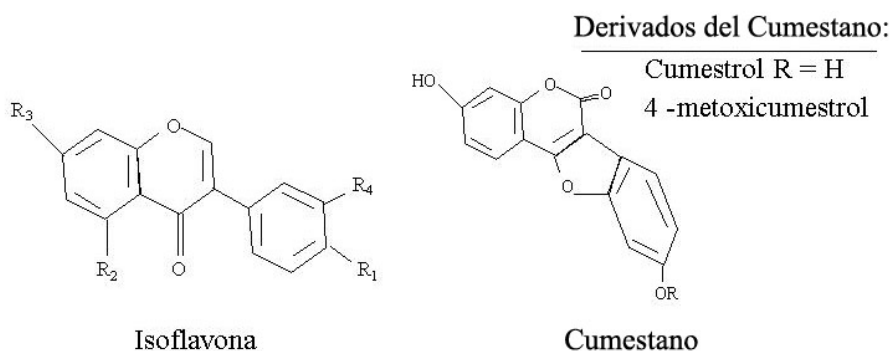
De acuerdo con el título de esta lección hoy nos referimos casi exclusivamente a las hormonas sexuales xenobióticas. En la revisión de Lone (1997) se estudian con detalle las hormonas sexuales naturales.

Estrógenos xenobióticos y sintéticos

Estrógenos vegetales.

Se sabe desde hace años que son muchos los vegetales que poseen acción estrogénica. Entre los alimentos humanos corrientes, en los que se han detectado sustancias estrogénicas, se encuentran zanahorias, trigo, arroz, avena y otros cereales, legumbres (semillas de soja y garbanzos), patatas, manzanas, cerezas y ciruelas (Lindner, 1995) y muchos aceites, como el de maíz, cacahuete, soja, coco y oliva. Hoy se conocen unas 300 plantas con acción estrogénica, destacando entre los forrajes y piensos animales la alfalfa, trébol rojo, bastantes legumbres, cebada, maíz y bulbos de tulipán.

Los estrógenos vegetales se incluyen en dos grupos: derivados de isoflavona y derivados del cumestano.



Derivados de la Isoflavona

Nombre	R1	R2	R3	R4
Genisteina	OH	OH	OH	H
Daidzeina	OH	OH	H	H
Biochanina A	OCH ₃	OH	OH	H
Formononetina	OCH ₃	OH	H	H
Prunetina	OH	OCH ₃	OH	H
Pratenseina	OCH ₃	OH	OH	OH

De Linder (1995)

Las concentraciones de estrógenos varían mucho de unas plantas a otras, siendo las leguminosas las que con mayor frecuencia llegan a los animales, tanto en forma de forrajes como formando parte de los piensos. Además de los compuestos de la tabla, debe citarse entre las isoflavonas la genisteína.

Los efectos biológicos de los estrógenos vegetales son semejantes a los de los naturales pero mucho menos potentes. En circunstancias normales el peligro de una acción estrogénica a consecuencia de los productos conte-

nidos en los alimentos es mínimo, dadas las pequeñas concentraciones que presentan los vegetales, lo que exigiría su ingestión continuada y sostenida durante mucho tiempo. Al comparar la potencia biológica de los estrógenos vegetales, basándose en su afinidad por los receptores estrogénicos del citosol de las células uterinas de rata, se estableció la siguiente graduación: cumestrol > genisteína > daidzeína > biochanina A > formononetina. Como era de esperar los estrógenos vegetales abundan más en la dieta de los vegetarianos que en la de los omnívoros, pero todavía se desconocen sus efectos en la salud; a este respecto, tienen gran importancia ciertos factores: microbiota intestinal, tiempo de tránsito entérico, tiempo y duración de la exposición a la dieta vegetariana e interacciones con otros ingredientes de la dieta.

En la orina de las personas que han ingerido alguna sustancia estrogénica vegetal se ha encontrado un glucurónido o sulfoconjugado de cumestano, conocido como “equol” (Axelson y col., 1982), cuya concentración aumenta al hacerlo y prolongarse la ingesta de la sustancia estrogénica, por ejemplo 40 g de soja durante 5 días. Se necesitan más investigaciones para evaluar las consecuencias de ingestas de mayor duración y profundizar en el conocimiento del metabolismo, farmacocinética y posibles residuos en las especies ganaderas. A este respecto hay que señalar que en los rumiantes, tanto las isoflavonas como los cumestanos sufren profundos cambios en el rúmen lo que disminuye su poder como promotores del crecimiento.

Estrógenos de origen fúngico.

Se pusieron de manifiesto por primera vez en 1928 cuando Mc Nutt y colaboradores comprobaron que el consumo de maíz enmohecido les producía a las cerdas vulvovaginitis y trastornos en la función sexual. Poco más tarde Stob y colaboradores aislaron de los cultivos del hongo *Gibberella zeae* el compuesto responsable que recibió el nombre de zearalenona. Además de la especie fúngica citada, también la originan ciertas especies de *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. roseum*, *F. oxysporum*, etc), *Stachyotrys chartrum*, *Paecilomyces terricola* y *Acremonium strictum*. La ingestión de piensos contaminados con estas especies fúngicas por vacas, ovejas, cerdas y gallinas les origina hiperplasia uterina, infertilidad, disminución del tamaño de las crías y con frecuencia mortalidad neonatal.

La zearalenona se acopla a los receptores estrogénicos del citosol y del núcleo de las células uterinas y también a los receptores citosólicos del hígado. Se trata de un estrógeno débil cuya potencia, estimada con el ensayo uterotrópico (Kumagai y Sumizu, 1982), corresponde al 0,1% de la actividad del 17 β -estradiol. Los cerdos son la especie más sensible pero son igualmente reactivos perros, roedores y monos.

La reducción química de la zearalenona rinde una mezcla de 7 α -zearalenol y de 7 β -zearalenol. El producto comercial o Ralgo (marca registrada) se compone de un 98% del isómero 7 α , que es el más activo. En EEUU se vende en forma de comprimidos de 12 mg para implantación subcutánea en la base de la oreja de los cerdos, la misma dosis que se implanta subcutáneamente a los corderos mayores de 6 meses. La dosis de los novillos de engorde es de 36 mg por implante subcutáneo. En 1969 la FDA estadounidense autorizó por primera vez la implantación de zeranol en novillos de cebo.

La mayoría de los trabajos con implantes de zeranol en novillos y corderos señalan un mayor peso vivo (en torno al 9,5%), y una mejor conversión del pienso (6,5% aproximadamente). Además retrasa la madurez sexual de los animales y cambia el comportamiento animal. Sin embargo, Van der Wal (1976) sostiene que las novillas frisonas no cambian significativamente el crecimiento ni la retención de nitrógeno. En 1955 investigadores de EEUU comprobaron que el zeranol alteraba la deposición de calcio a juzgar por los cambios del tercer metacarpiano y de sus características físicas y mecánicas.

Estrógenos de síntesis.

De todos los estrógenos sintéticos disponibles los mejores promotores del crecimiento son los derivados del estilbeno, es decir, dietilestilbestrol (DES), hexestrol (HEX) y dienestrol. Sin embargo, a medida que se profundizaba más en su toxicidad y efectos cancerígenos, su empleo se prohibía en casi todos los países.

El DES se sintetizó en 1938 (Dodds y cols.), comprobándose dos años más tarde que implantado subcutáneamente en pollos, terneros, corderos y lechones mejoraba la ganancia ponderal diaria. En 1950 se comprobó que

también era activo *per os*. Mientras los estrógenos de síntesis dan lugar en los mamíferos a canales más musculosas y menos grasas, con lo que mejora su calidad, en las aves aumenta también la ganancia en peso pero las canales son más grasas que las de los animales sin tratar. Hexestrol y dienestrol tienen los mismos efectos pero menos manifiestos, de aquí que los animales tratados con ellos no alcancen la calidad de los que reciben DES.

El DES tiene dos isómeros (*cis* y *trans*) con diferente actividad en pruebas de crecimiento, siendo el isómero *trans* el más potente. Las vesículas seminales de novillos Hereford tratados con este isómero son de mayor tamaño que las de novillos a los que se administra *cis* – DES.

Andrógenos

En producción animal se incluyen bajo este nombre tanto las hormonas producidas naturalmente por las células de Leydig de los testículos y a veces también por el ovario (testosterona), como las sintetizadas industrialmente. Independientemente de su origen, ambas ejercen funciones androgénicas y anabolizantes.

Andrógenos naturales.

Se trata de las hormonas sexuales masculinas. En todas las especies animales, desde los peces a las personas, los andrógenos se sintetizan fundamentalmente en las células testiculares de Leydig, a partir del colesterol ligado a las lipoproteínas extracelulares de baja densidad. Además de testosterona, que es el andrógeno principal, en los testículos se producen igualmente, androstenodiona y deshidroepiandrosterona, ambas tienen una potencia androgénica muy inferior a la de la testosterona.

Los andrógenos actúan directamente en las células musculares, que son incapaces de convertir la testosterona en dihidrotestosterona además, su funcionamiento no está mediado por otras hormonas; por estas razones son anabolizantes. Desde hace años se sabe que la testosterona es anabolizante. Sin embargo, la hormona apenas se ha empleado, independientemente, como

promotor del crecimiento pero combinada con los estrógenos naturales o sintéticos ha dado buenos resultados.

Como en el caso de los estrógenos naturales, tampoco los andrógenos endógenos se tratarán en esta lección; en la bibliografía se citan varias revisiones sobre el tema.

Andrógenos sintéticos.

El primer compuesto de este tipo fue la trenbolona (o mejor acetato de trenbolona) sintetizada en Francia en 1967, donde se le denominó originalmente trienobolona. Por su comportamiento se trata de un auténtico anabolizante esteroideo. Bajo el nombre comercial de “Flinpix” se presenta en el comercio en tubos de plástico que contienen la dosis para un animal, 300 mg, distribuida en 15 comprimidos de 20 mg. Es inactiva *per os* y termolábil por lo que, una vez cocinada, los riesgos de residuos en la carne son mínimos para los consumidores. Se aplica en implantes subcutáneos (Bouffault y Willemart, 1983).

Como acetato, la trembolona se usa sola o combinada con otros anabolizantes. En los primeros ensayos franceses se comprobó que las vacas selectas ganaban un 27-30% más peso que los animales del grupo control y disminuían la grasa perirrenal. La eficiencia en la conversión del pienso aumentó un 22% (Best, 1972).

En otros experimentos se comprobó una mayor retención de nitrógeno y una menor excreción por la orina que en los animales del grupo control. En terneros los resultados han sido semejantes: mayor peso y menor contenido de grasa perirrenal que en los controles; en cambio en los toros son bastante controvertidos (Reynolds, 1980). Se sabe poco de los efectos de la trenbolona en el ganado lanar, pero los pocos estudios realizados indican que es un buen promotor del crecimiento, lo mismo que en los pavos.

La prohibición del empleo de xenobióticos como promotores del crecimiento animal en la UE no ha terminado con su empleo ilegal. Actualmente se utilizan fraudulentamente mezclas de varios anabolizantes que se encuentran a la venta en un floreciente mercado negro. La testosterona y también la nandrolona interfieren en la detección y estimación de la trembolona que

siguen utilizando ganaderos desaprensivos para engordar su negocio al margen de la ley. Otros compuestos utilizados con el fin de confundir a los analistas son etilestrenol, norboletona, estenobolona, bolasterona, etc.

Progestágenos naturales y sintéticos

Llamadas “hormonas de la gestación”, algunas se emplean en medicina veterinaria, por ejemplo, progesterona, clormadinona, melengestrol y medroxiprogesterona, que, como acetatos (salvo la primera) y en combinación con los estrógenos o los andrógenos, se usan como promotores del crecimiento.

Aunque al principio la implantación de 60 mg de progesterona no dio resultado alguno en el crecimiento ponderal, después se comprobaría que el acetato de melengestrol, que es activo por vía oral, aumenta la eficacia de conversión del pienso y suprime el celo de las vacas. Se aprobó como anabolizante en EEUU en 1968. Se administra con el pienso en dosis de 0,25 – 0,50 mg/cabeza y día y debe observarse un tiempo de suspensión o retirada del medicamento de 48 horas antes del sacrificio.

EFFECTOS DE LOS ANABOLIZANTES EN LA CALIDAD DE LA CARNE.

Como se indica al principio, en los últimos cinco lustros en todos los países industrializados se demandan canales menos grasas y cortes de carne más magros que los consumidos tradicionalmente. Esto se debe a la mala prensa de la grasa animal en relación con la patología ateromatosa humana y a la constante preocupación por el aspecto físico y por mantenerse esbeltos huyendo del sobrepeso y de la obesidad. En Finlandia, bajo la presión de las asociaciones de consumidores, han conseguido rebajar un 30% el contenido graso del magro de cerdo y en los EEUU entre el 15 y el 20% (McCracken, 1993). Las disminuciones grasas de la carne de vacunos, cerdos y lanares, alcanzadas en otros países, han sido del 6%, 23% y 9% respectivamente (Rose, 1990).

Mediante selección genética y cruzamiento de los animales, con una alimentación y alojamiento racionales y empleando ciertos productos farma-

cológicos, se ha conseguido reducir el contenido graso de las canales animales. Si bien todos los anabolizantes estudiados en este trabajo persiguen mejorar el crecimiento ponderal y la calidad de las canales animales no todos consiguen los mismos efectos dado que hay una serie de factores, que van del medio ambiente a las técnicas de explotación y cría animal, que influyen en los rendimientos de la canal y en la calidad final de la carne. Los principales son: especie, raza, sexo y edad animal, dosis de anabolizante administrada, vía de administración, etc.

El espacio disponible nos impide extendernos en estos aspectos por ello remitimos al lector interesado a las publicaciones de Price y Fenwick (1985), Enright (1990) y Etherton (1991).

MECANISMO DE ACCIÓN

Como tanto se ha insistido, los anabolizantes aumentan en el ganado la masa ponderal, la eficacia de la conversión o transformación del pienso en carne y la retención de nitrógeno. Por tanto incrementan la síntesis proteica sin modificar su degradación o catabolismo. Puesto que los músculos esqueléticos son la reserva proteica natural del organismo, es en ellos donde mejor se aprecia dicho incremento, de aquí que a los anabolizantes se les haya llamado también *miotrópicos* atendiendo a su principal sitio de acción o diana final.

Efectos directos e indirectos de los andrógenos.

La testosterona producida en los testículos pasa directamente a la sangre, donde se une a unas proteínas específicas, conocidas como globulinas ligantes de hormonas sexuales (SHBG). Estas proteínas tienen mayor afinidad por los esteroides que ninguna otra proteína plasmática y además, facilitan su entrada en las células de los tejidos diana. Una vez dentro de la célula, la testosterona se une a un receptor citoplasmático de naturaleza proteica. A continuación el complejo hormona-receptor penetra en el núcleo y se une a un receptor nuclear dejando libre el receptor proteico del protoplasma. Cuando esto ha tenido lugar, la hormona interactúa con la cromatina nuclear.

Las células musculares y en menor cantidad otros tejidos, también poseen receptores androgénicos, por lo que estas hormonas actúan directamente en ellas (Michel y Baulieu, 1980). Se ha comprobado que el estradiol tiene una afinidad por los receptores androgénicos específicos cinco veces menor que la testosterona, siendo aun menor la afinidad de la progesterona. La castración disminuye el número de receptores androgénicos mientras que la inyección de testosterona en las hembras los aumenta (Michel y Baulieu, 1983). Estos y otros estudios indican que los receptores celulares de andrógenos son distintos de los de estrógenos.

La respuesta de los músculos a los andrógenos varía de unos a otros, siendo los cervicales y los escapulares los que mejor lo hacen; son precisamente estos músculos los más ricos en receptores.

Además de los efectos directos en la musculatura esquelética, la testosterona, trenbolona y otros andrógenos modifican las concentraciones de otras hormonas circulantes de gran interés para el desarrollo animal, como hormona del crecimiento, hormonas tiroideas, insulina y glucocorticoides, alterando asimismo sus interrelaciones y metabolismo.

Galbraith y Berry (1994) han estudiado en corderos de 4 meses el papel de los andrógenos naturales (testosterona) y sintéticos (fenilpropionato de nandrolona y acetato de trenbolona) en el crecimiento, actividad androgénica, peso del timo y receptores musculares de glucocorticoides. Para ello implantaron dos veces a los animales, a los 100 y 60 días antes del sacrificio, 50 mg de los andrógenos citados. La testosterona y el acetato de trenbolona, pero no la nandrolona, mostraron una potente actividad androgénica ya que aumentaron el peso de la glándula vesicular accesoria. Los dos andrógenos sintéticos (trenbolona y nandrolona) pero no el natural (testosterona) disminuyeron el peso del timo. También comprobaron en preparaciones de citosol del músculo glúteo de carneros, a los que se había implantado trenbolona, una disminución de receptores de dexametasona. En una preparación semejante de corderos, a los que se hicieron implantes de testosterona, se comprobó una mayor capacidad ligante de dexametasona. Estos resultados concuerdan con el efecto reductor, bien conocido, de la degradación proteica que ejerce la trenbolona y con el aumento, tanto de la síntesis, como de la degradación proteica muscular ejercido por la testosterona. Sin embargo, con una combinación de testosterona y nandrolona no se obtuvieron los mismos resultados. Por tanto hacen falta más estudios de este tipo con animales de

sultados. Por tanto hacen falta más estudios de este tipo con animales de distinto sexo, para comprender mejor los mecanismos moleculares subyacentes en el crecimiento de los rumiantes.

Efectos directos e indirectos de los estrógenos.

Su mecanismo de acción no se conoce tan bien como el de los andrógenos. Se sabe que en los músculos hay receptores estrogénicos, distintos de los androgénicos. Algunas publicaciones señalan que los estrógenos también se acoplan a los receptores de los andrógenos pero con menor afinidad (5-10 veces menor). A este respecto conviene señalar que los estrógenos naturales se unen a los receptores musculares, algo que no hacen los sintéticos como el DES; esto significa que unos y otros difieren en sus mecanismos íntimos de acción; tal vez los naturales actúen directa e indirectamente, mientras los sintéticos solo lo hagan por vía indirecta (Dixon, 1983).

Los efectos indirectos de los estrógenos están mediados por la secreción de HC y de insulina. Se ha visto que los animales tratados con estrógenos presentan lóbulos anteriores de la hipófisis de mayor peso que los controles; además contienen mayor cantidad de HC, algo que también ocurre con los niveles de insulina (Hancock y col., 1991). Posiblemente las mayores concentraciones de insulina se deben a la acción diabetógena por el aumento de la HC en los animales tratados con estrógenos.

Progestágenos

Se conoce bastante menos del mecanismo de acción de estas sustancias que en el caso de los estrógenos, ya que se han publicado muy pocos trabajos sobre su efecto en la musculatura. Sin embargo, se piensa que dada su semejanza estructural con los andrógenos y puesto que derivan de la nortestosterona, podrían interactuar con los receptores de los andrógenos; también podrían hacerlo indirectamente, vía la HC y la insulina. De todos modos conviene tener en cuenta que los efectos del acetato de melengestrol en el crecimiento son independientes de los que ejerce en los ovarios a consecuencia de la disminución de los niveles plasmáticos de cortisol y cortisona.

De lo expuesto sobre el mecanismo de acción de las sustancias anabolizantes esteroides se deduce, que a pesar de los muchos trabajos realizados, es más lo que se ignora que lo que se sabe. Se comprende que así sea, dadas sus diferencias en estructura química, metabolismo y farmacología. De otra parte son muchos los factores que influyen en sus propiedades farmacológicas: especie animal, raza, edad, sexo, características genéticas, alimentación, higiene de la granja, tratamientos profilácticos y terapéuticos recibidos, etc.

Fink Gremmels y Van Miert (1994) y Lone (1997) han estudiado el metabolismo y farmacocinética de los agentes anabolizantes.

METABOLISMO Y FARMACOCINÉTICA DE LOS ANABOLIZANTES

En los animales productores de alimentos, como en la especie humana, todos los fármacos que pretendan utilizarse en terapéutica, lo mismo que sus metabolitos y que los demás productos químicos empleados con fines zootécnicos, deben someterse a una serie de estudios farmacocinéticos y toxicológicos antes de que las correspondientes autoridades sanitarias aprueben su utilización.

En este trabajo no estudiaremos los esteroides naturales o endógenos, cuyas propiedades y farmacología pueden revisarse en los excelentes tratados hoy disponibles de Bioquímica, Farmacología, Endocrinología y Producción Animal. Por lo tanto nos limitaremos a una breve revisión de los esteroides xenobióticos.

Dietilestilbestrol. El DES ha sido muy empleado en producción animal y antes de prohibirlo (1979 en EEUU y dos años después en la UE) el 80% del ganado vacuno de engorde se implantaba con esta sustancia. Según la FDA en 1970 se utilizaron con este fin en EEUU 27.642 kg.

En estudios farmacológicos con DES marcado con ^{14}C se comprobó que con el aire expirado no se eliminaba $^{14}\text{CO}_2$. El ganado vacuno elimina por las heces de dos a tres veces más $^{14}\text{CO}_2$ que por la orina y las ovejas 14 veces más. También se ha visto que el 64% del ^{14}C aparece como DES y un 23% como 3-*p*-hidroxifenil-2-hexen-4-ona. Una mínima parte se identificó

como p-hidroxipropiofe -nona. Se comprobó igualmente que el DES se degrada en las heces, actividad que llevan a cabo las bacterias.

Zeranol. Según Sharp y Dyer (1972) cuando se implanta en la base de la oreja zeranol radioactivo (72 mg), la radioactividad se detecta en las heces hasta 90 días después del implante, mientras en la sangre no se detecta después de los 12 días. Las heces mostraban más radioactividad que la orina. Salvo en la bilis y en el páncreas (¡solo en un animal!) en ningún otro tejido se observó radioactividad. En ratas hembras el zeranol y la zearalenona son los residuos más abundantes ya que suponen, respectivamente, el 25% y el 30% del total.

Acetato de melengestrol (MGA). Se sabe muy poco del comportamiento de este compuesto en el ganado al que se administraba a dosis de 0,25-0,50 mg /cabeza y día. Cuando se suministra con el pienso varios meses a dosis de 0,5 mg por día y a continuación se sustituye por MGA tritiado o por ^{14}C -MGA el 87% de la radioactividad se elimina por las heces y el 13% por la orina.

Del hígado de los animales tratados se aislaron seis metabolitos distintos; ninguno superó la concentración de 1 pp millardo; la grasa contenía 5,6 pp millardo por lo que se ha considerado tejido diana; el riñón alcanzó 1-2 pp millardo y la musculatura mostró siempre los valores más bajos, en ocasiones menores que los de la sensibilidad del método (0,5 pp millardo) (Krzeminski y col., 1976).

Acetato de Trembolona. La implantación en vacas de 300mg de acetato de trembolona, marcada con tritio, en la base de la oreja o su administración por vía endovenosa (10 mg) sirvió para estudiar su farmacocinética en el plasma. Se comprobó que la hidrólisis del acetato de trembolona era muy rápida ya que después de 6 minutos de inyectada solo quedaba un 2% de la dosis administrada. En el caso del implante la liberación se realizaba lentamente *in vitro* e *in vivo* sobre el metabolismo, farmacocinética y residuos del acetato de trembolona (Evrard y col., 1987 y Evrard y col., 1989) la mayor parte de los residuos no pueden extraerse por estar unidos covalentemente a los ácidos nucleicos. Concluyeron que el empleo de acetato de trembolona podía considerarse seguro siempre que la cantidad total de residuos en forma de 17β -trembolona y 17α -trembolona no superaran, respectivamente, los 0,7 mg y los 7 mg.

Desde hace algunos años se ha estudiado el metabolismo de muchas otras sustancias que se emplean fraudulentamente en múltiples mezclas ilegales que se venden en el mercado negro. Entre ellas debe citarse la *nandrolona* o *19-nortestosterona* (17β -19-nortestosterona), uno de los anabolizantes más populares para el engorde de vacunos y cerdos. Calvarese y col. (1994) han estudiado la farmacocinética de esta sustancia en presencia de *dexametasona*, otro anabolizante esteroideo. Vieron que los residuos de nortestosterona se detectaban en la orina hasta 14 días después de inyectada y en las heces hasta los 21. Su compañera de mezcla, la dexametasona, se detectaba hasta los 11 y 28 días.

RESIDUOS EN LOS ALIMENTOS

Son relativamente pocos los estudios realizados sobre el metabolismo de los anabolizantes esteroideos. De ahí la necesidad de investigar más profundamente en su conocimiento. Quizá la escasez de tales trabajos se deba a la falta de métodos suficientemente sensibles para poner de manifiesto concentraciones del orden de 10^{-12} picogramos. Otro aspecto que requiere más investigación son los primeros estadios del metabolismo secundario. Nos referiremos ahora a los principales anabólicos xenobióticos.

Derivados del estilbeno. El dietilestilbestrol, a pesar de estar prohibido en todo el mundo sigue empleándose fraudulentamente como se señaló en Italia, donde se detectaron alimentos infantiles contaminados con niveles altos de DES (Loizzo y Macri, 1983). Aunque según algunos estudios el DES administrado *per os* a los pollos no deja residuos, sus implantes los producen hasta 3 meses después de la implantación.

En el ganado vacuno la mayor cantidad de residuos ocurre en el hígado y riñones; su concentración muscular es mucho menor. Los niveles máximos acaecen en el lugar del implante pero cuando las muestras se toman a muy poca distancia de dicho sitio las concentraciones caen llamativamente (Karg y col., 1984).

El hexestrol se considera menos peligroso que el DES; comenzó a utilizarse en Europa en 1957, ahora y como él está prohibido desde 1981. Se administra por vía bucal. De todas las canales animales analizadas las de po-

llos son las que presentan concentraciones más altas de residuos. En los músculos, que son los tejidos con menor concentración de residuos, predomina el HEX libre (70% aproximadamente) mientras en el hígado y el riñón predomina la forma conjugada como glucurónido (70-80%). Su metabolismo es igual que el de otros estrógenos.

Zeranol. Son pocos los datos disponibles; los pocos con que se cuenta indican que son muy bajas sus concentraciones tisulares y que la repetición de los implantes no da lugar a mayores niveles. La concentración más alta se presenta a los 5 días después del implante y luego va descendiendo lentamente hasta el día 65. Los valores más altos, que nunca superan las pp millardo, corresponden al hígado. Sus principales residuos son, además del propio zeranol, la zearalenona y el taleranol (Lamming, 1987; OMS, 1988).

Acetato de trembolona. Se hidroliza rápidamente a β -trembolona y después pasa a 17α -trembolona que es su principal metabolito. En la musculatura la mayor parte de los residuos corresponden a la β -trembolona. Cuando se implanta combinado con estradiol (u otras sustancias) a una concentración de 200 mg por implante, el máximo nivel de residuos ocurre entre los 15 y 30 días, decayendo después progresivamente. La concentración máxima en el hígado es de 50 $\mu\text{g/kg}$ y en la musculatura de 3 $\mu\text{g/kg}$. También se ha señalado que los residuos solubles suponen el 10% del total estando el resto ligados al tejido (es decir, no son extraíbles con disolventes orgánicos). La ADI para la especie humana se ha fijado en 0-0,1 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal (FAO, 1988; OMS, 1988).

En las publicaciones de Farber (1991) y Meyer (1991), se tratan los residuos de otros xenobióticos prohibidos.

EFFECTOS TOXICOLÓGICOS DE LOS XENOBIÓTICOS ANABOLIZANTES

Andrógenos, estrógenos y progestágenos, tanto naturales como especialmente xenobióticos, no están exentos de riesgos como indica la bibliografía científica, y aunque dentro de ella algunos trabajos están en favor del empleo del zeranol y del acetato de trembolona, son mayoría los que indican que deben evitarse. De hecho ninguna de estas sustancias puede emplearse indiscriminadamente dados sus efectos sobre la salud humana y animal y

sobre el medio ambiente, como recientemente ha recogido en su trabajo de revisión Mestres (2001).

Por lo que se refiere al DES, el más utilizado de los estrógenos xenobióticos, desde la década de 1940 se sospecha de su acción carcinogénica. Unos treinta años después se comprobaría que en las mujeres ocasiona teratogénesis, cáncer vaginal y carcinogénesis transplacentaria. En 1971 se comprobó que de ocho mujeres jóvenes (15-22 años) que presentaban adenocarcinoma vaginal, siete eran hijas de madres que se trataron con DES en su primer trimestre de embarazo por amenaza de aborto u otros problemas ginecológicos. En las últimas décadas del siglo XX se observó que el DES y sus metabolitos se unen a los receptores del estradiol. Al parecer la carcinogenicidad de estas sustancias implica su activación por los sistemas de óxido - reducción celulares.

La relación entre estrógenos y cáncer se ha sugerido múltiples veces y por ejemplo, Service señaló en *Science* en 1998 que, aparte de su acción promotora del crecimiento animal, también actúan como favorecedores del desarrollo canceroso y como mutágenos. Estudios epidemiológicos diversos han puesto de manifiesto la influencia de estas sustancias en tres de los cinco cánceres más frecuentes de la mujer: mamario, uterino y ovárico.

Ultimamente se ha llamado la atención sobre las anomalías observadas en los órganos genitales y en la fertilidad de los animales de vida acuática, originadas por los xenobióticos del ambiente, que se piensa que actuarían como alterantes del sistema endocrino (lo que conocen en los países de habla inglesa como *endocrine disrupters*). En peces, anfibios e incluso en mamíferos que pasan una gran parte de su vida en el agua, como nutrias, castores, desmanes y otros, además de pérdida de fertilidad se ha visto un mal funcionamiento del sistema inmune.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, no es de extrañar que el Consejo de la CEE prohibiese el empleo de los anabolizantes hormonales como promotores del crecimiento, primero en 1988 y de nuevo en 1991. En consecuencia se prohibió igualmente la entrada en los países miembros de la UE de carne hormonada procedente de países terceros. Los EEUU reaccionaron llevando a cabo un estudio, dirigido por el USDA, sobre el “impacto económico” de la prohibición en la CEE de los implantes animales de xenobióticos anabolizantes. De aquí derivó la llamada “guerra de la carne” entre los

EEUU y la UE. Los estadounidenses han defendido el empleo de los anabolizantes, salvo el DES y sus derivados, por las siguientes razones:

1. Las pérdidas de carne y por tanto económicas a que daría lugar tal prohibición.
2. Porque los residuos de las hormonas anabolizantes son tan bajos que no acarrearán peligro para la especie humana.
3. Que tres de las hormonas naturales más utilizadas son las mismas que los correspondientes productos sintéticos.
4. Que las cantidades mayores o menores de residuos en la carne dependen sobre todo de la fase del ciclo reproductor en que se encontrasen los animales en el momento del sacrificio.
5. Que hay dos hormonas xenobióticas (zeranol y trenbolona) que no son mutágenas ni cancerígenas en el test de Ames.
6. Que el Comité Conjunto de Expertos de la FAO/OMS en Aditivos de los Alimentos estableció para la trenbolona una ADI de 0,1 µg/kg de peso y para el zeranol de 0,5 µg/kg, valores muy superiores a los alcanzados por sus residuos en la carne.

Sostienen, además, que la prohibición de estos promotores del crecimiento dará lugar a un comercio ilegal de éstas y otras sustancias que por otra parte serían implantadas o inyectadas por ganaderos y otras personas sin la debida titulación, lo que provocaría nuevos y peores problemas. Hoy son más de 40 solo los productos esteroideos de este tipo empleados como promotores del crecimiento.

β-AGONISTAS O AGENTES DE REPARTO

A raíz de la prohibición de las hormonas esteroideas como agentes promotores del crecimiento animal, comenzaron a popularizarse en todo el mundo los llamados “agentes de reparto” o β-agonistas, como sustitutos de los antitiroideos y de los compuestos hormonales. Se trata de los últimos productos que se han incorporado (por ahora) a la ya larga lista de promotores del crecimiento o anabolizantes. Son sustancias obtenidas por síntesis

química que se ligan a los receptores β -adrenérgicos celulares y actúan como los mediadores fisiológicos naturales; por lo tanto se parecen a la noradrenalina (norepinefrina) y adrenalina (epinefrina) no solo en su mecanismo de acción sino también en su estructura química, ya que se trata de análogos estructurales de la β -fenil-etanolamina (figura 1).

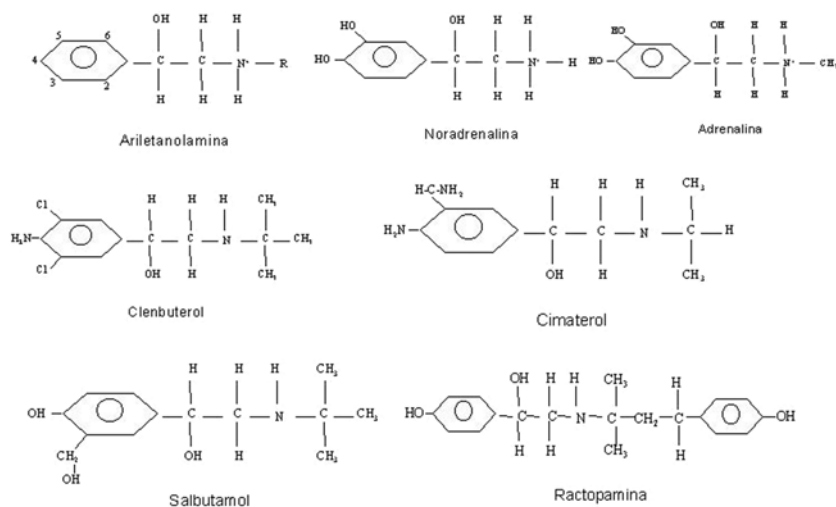


Figura 1. Fórmulas de la ariletanolamina, de algunos β -agonistas, y de los mediadores fisiológicos, noradrenalina y adrenalina.

Propiedades generales

Dependiendo de los radicales que ocupen las posiciones 3, 4 y 5 del anillo de la ariletanolamina (ver *figura 1*) y de los sustitutos de R de la cadena se obtienen una serie de compuestos, como clenbuterol, cimaterol, salbutamol, metaproterol, terbutalina, mabuterol y otros; los tres primeros se han empleado como promotores del crecimiento (Sanz, 1995. Parte 1ª y parte 2ª).

Las catecolaminas (noradrenalina y adrenalina) son neurotransmisores simpaticomiméticos que provocan una inmediata adaptación del metabolismo a las situaciones de estrés (frío, calor, ruidos, luchas, miedo, etc.) para mantener la homeostasis del organismo. Además estimulan la lipólisis, con la consiguiente liberación de ácidos grasos, ejerciendo por otra parte un efecto

positivo en la retención de nitrógeno. Las células efectoras interaccionan por medio de los *receptores específicos* de su superficie celular.

Cuando las catecolaminas estimulan a los receptores adrenérgicos celulares se inician una serie de cambios en la membrana que van seguidos de una cascada de acontecimientos en el interior de la célula. Las sustancias que ponen en marcha la respuesta al estímulo se conocen como *agonistas* y las que la bloquean, impidiendo la interacción del agonista con el receptor, reciben el nombre de *antagonistas* o *agentes bloqueadores de los receptores*.

Al unirse los agonistas con los receptores β -adrenérgicos, el complejo resultante, agonista-receptor, activa a las proteínas G (o N) que son los principales mediadores de las respuestas adrenérgicas celulares. Las dos proteínas G mejor conocidas son la G_s y la G_i . La primera al activarse se une al trifosfato de guanina (GTP) que activa, a su vez, a la adenilciclase, enzima que rinde adenosin monofosfato cíclico (cAMP). Se trata de una de las enzimas intracelulares más importante. Por su parte la proteína G_i inhibe a esta enzima.

Receptores adrenérgicos

Se conocen dos tipos de receptores adrenérgicos, el α y el β : Ambos tipos poseen agonistas y antagonistas específicos, lo que permite estimular o inhibir a un tipo sin afectar al otro. Tanto los receptores α como los β se dividen en subtipos que desempeñan distintas funciones; también éstos pueden activarse o inhibirse de forma diferencial.

Las funciones principales desempeñadas por los receptores α -adrenérgicos son vasoconstricción, relajación de la musculatura lisa y dilatación pupilar. En cambio los receptores β intervienen en la estimulación de la frecuencia y contracción cardíacas, vasodilatación, broncodilatación y lipólisis. En cualquier tratado moderno de fisiología o farmacología el lector interesado podrá ampliar detalles sobre los receptores.

Se conocen tres subtipos de receptores β adrenérgicos: β_1 , β_2 y β_3 . En la mayor parte de las células de los mamíferos se han encontrado receptores β -adrenérgicos, sin embargo, su distribución y sus proporciones respectivas varían de unos tejidos a otros dentro de cada especie animal. Su distribución

en el mismo tejido varía también de unas especies a otras, y por último, la secuencia de aminoácidos de los distintos subtipos de receptores cambia de unas especies animales a otras. Debido a estas variaciones los efectos farmacológicos observados tras la administración oral de un β -agonista adrenérgico son complejos y difíciles de discernir. Mersmann (1998) ha revisado la modulación del crecimiento animal bajo el efecto de los β -agonistas y los mecanismos de acción propuestos.

Agonistas β -adrenérgicos

Además de los agonistas β -adrenérgicos fisiológicos (noradrenalina y adrenalina) que circulan por la sangre, hoy se conocen cientos de moléculas sintéticas que pueden unirse a los receptores β -adrenérgicos; algunas de ellas son agonistas y otras antagonistas; las últimas se unen al receptor pero no activan la proteína G_s con lo que bloquean la función receptora. El interés por los agonistas y antagonistas de este tipo se debe, bien a que algunos estimulan específicamente a los receptores β -adrenérgicos de la musculatura tráqueo-bronquial, produciendo la relajación y dilatación de los conductos respiratorios (mejorando así los síntomas del asma), o bien a que cambian la función cardiovascular al disminuir la frecuencia cardíaca, la contractibilidad y la presión sanguínea.

Se necesita eliminar a los agonistas para que los receptores no permanezcan siempre activos. Noradrenalina y adrenalina son inactivados por la catecol-*o*-metiltransferasa, una enzima que metila los grupos hidróxilo del anillo (ver figura) y por la monoamino oxidasa que desamina al ligando (Landsberg y Young, 1992).

β -agonistas y crecimiento animal.

Cunningham demostró en 1965 que podía modificarse el crecimiento suministrando a los animales sustancias que directa o indirectamente cambian los niveles celulares de adenosin monofosfato cíclico (cAMP), por ejemplo, cafeína, teofilina, nicotina y epinefrina. Casi 20 años más tarde,

Ricks y col. (1984) señalaron que podía modularse el crecimiento de los animales suministrándoles con el pienso clenbuterol. En el ganado en crecimiento (vacuno, porcino, aviar y lanar) esta sustancia aumentó la masa muscular y disminuyó el contenido graso. En algunos casos aumentó igualmente la ganancia de peso y la eficiencia de la conversión del pienso en carne. En los años siguientes fue práctica corriente suministrar con el pienso a los animales éste y otros β -agonistas (cimaterol, ractopamina, salbutamol, etc) con resultados parecidos. Adelantemos ahora que el empleo como promotores de estas sustancias está prohibido en la UE y en EEUU.

Los efectos de los β -agonistas son menos manifiestos en los pollos que en los corderos, los cerdos ocupan a este respecto un lugar intermedio y el vacuno responde, poco más o menos, como los lanares. Posiblemente estas diferencias son consecuencia de que algunas especies animales (cerdos y pollos) se han seleccionado tanto, con vistas a mejorar su crecimiento, que prácticamente el margen de mejora que tienen es ya muy pequeño y está muy próximo al crecimiento máximo biológicamente posible (Mersmann, 1998). Otra posible razón sería que determinado agonista no fuera tan eficaz en unas especies como en otras; por ejemplo, porque no activara tan bien los receptores del tejido diana en una especie. Otras posibles razones serían que los receptores β -adrenérgicos de los tejidos se inactivasen rápidamente o que una especie animal tuviera un número limitado de los mismos con lo que disminuiría la respuesta al agonista. Por desgracia son muchos los factores tangibles e intangibles en los experimentos de crecimiento animal y en los ensayos farmacológicos para poder establecer conclusiones comparativas a partir de pruebas individuales.

Receptores β -adrenérgicos

Casi todas las células animales poseen receptores β -adrenérgicos en el plasma membranario; constan de una cadena lineal de más de 400 aminoácidos. El modelo propuesto por Ostrowski y colaboradores (1972) y reproducido por Mersmann (1998), indica (*figura 2*) que siete dominios transmembrarios, relativamente hidrofóbicos, fijan el receptor al plasma de la membrana. Además, hay cuatro porciones extracelulares que sobresalen de la

membrana (tres bucles conectan los dominios transmembranarios adyacentes) y otras cuatro porciones intracelulares en el interior de la membrana (otros tres bucles conectan los dominios transmembranarios adyacentes). El sitio de unión del ligando es el centro de los siete dominios transmembranarios y en él están implicados aminoácidos de distintos dominios. Los lugares de interacción con la proteína G_s se localizan en ciertas zonas de los bucles 2, 3 y 4.

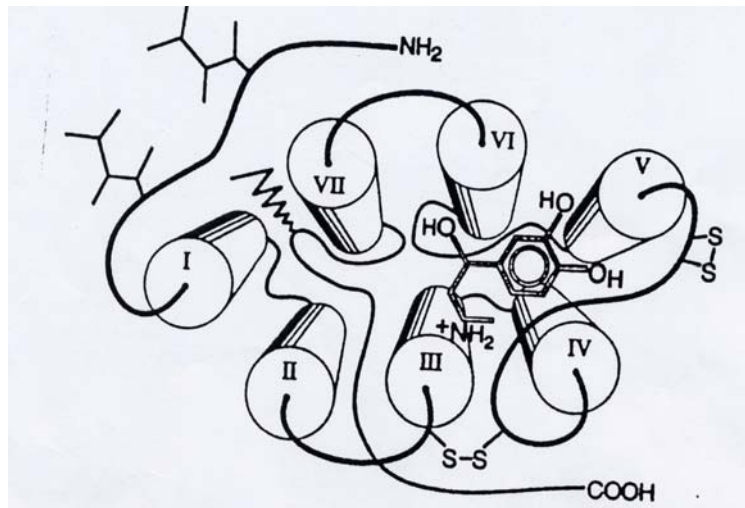


Figura 2. Estructura de un receptor β -adrenérgico. Se muestran sus siete dominios transmembranarios (cilindros), la norepinefrina (ligando), las porciones extracelulares (líneas gruesas en la superficie superior de los cilindros) y las intracelulares (líneas delgadas en la base de los cilindros). Fuente: Ostrowski y colaboradores (1992).

Para evitar la activación indefinida del receptor β -adrenérgico, o se elimina el agonista con mecanismos de “reabsorción” o degradación, o bien se inactiva por otros mecanismos. El receptor, después de unirse al agonista, puede fosforilarse por la acción de una quinasa específica que se localiza en determinados sitios del bucle 4 intracelular. La proteinquinasa A también puede fosforilizar al receptor. Este puede eliminarse de la membrana plasmática en condiciones de estimulación crónica que disminuyen la respuesta, al

reducir el receptor β -adrenérgico (Ostrowski y col., 1992; Kobilka y Hoffman, 1975).

En 1940-1950, al investigar las funciones que estimulan o inhiben la norepinefrina, epinefrina y sustancias análogas se demostró que había receptores α y β . Tanto la norepinefrina como la epinefrina estimulan ambos tipos de receptores, pero la epinefrina es más potente puesto que actúa a concentraciones menores. En los primeros años 70 se comprobó que había dos subtipos de receptores β : los β_1 y los β_2 .

La norepinefrina es más activa en los β_1 que en los β_2 . Este sistema de clasificación ha permitido una mejor comprensión de las complejas funciones adrenérgicas. Además puso de manifiesto que había lo que se han llamado “tejidos prototípicos”, esto es, tejidos en los que hay casi exclusivamente receptores de un solo tipo; sirvan de ejemplo el tejido cardiaco de las ratas para las respuestas de los receptores β_1 y la musculatura traqueal de los cobayas para las de los receptores β_2 .

Arch y Kaumann (1993) confirmaron que, como se sospechaba desde 1975, en los adipocitos de rata había un receptor adrenérgico distinto de los conocidos (β_1 y β_2); este nuevo receptor atrajo mucho la atención y fue objeto de muchos estudios por su efecto termogénico y por lo tanto por su importante papel potencial en la obesidad. Aunque se ha perdido el interés por su rol como responsable parcial de la obesidad humana, las investigaciones realizadas llevaron al descubrimiento del receptor β_3 , un nuevo receptor que predomina en el tejido adiposo marrón y blanco de la rata. También se encuentra en otras zonas del organismo, como garganta, musculatura esquelética y músculo cardiaco. El receptor β_3 -adrenérgico es farmacológicamente distinto de los otros dos subtipos y el cuarto bucle intracelular de su estructura proporciona pocos sitios para su inactivación por fosforilación (Giacobino, 1995; Langin y col., 1995). Aunque se conocen agonistas específicos de los receptores β_3 , algunos antagonistas de los receptores β_1 y β_2 actúan como agonistas parciales (y a veces totales) de los receptores β_3 . Sano y colaboradores (1993) y el grupo de Pietri-Rouxel (1995) han estudiado a fondo los β -receptores.

Mecanismo de acción.

Cualquiera que sea el mecanismo que se postule para explicar los efectos de los agonistas β -adrenérgicos, deberá tenerse en cuenta que se inicia con la activación de los receptores β y que continúa con la de las proteínas G_s que activan, a su vez, a la adenilciclase que rinde AMP cíclico.

La distribución casi universal de los receptores β -adrenérgicos por todas las células de los mamíferos constituye el *milieu* en el que acaecen los complejos mecanismos de acción, que dependen de los subtipos de receptores β -adrenérgicos que se expresan en las distintas células y de la distribución del agonista por los diversos tejidos. El mecanismo *in vivo* de un agonista β -adrenérgico puede complicarse mucho por los efectos secundarios resultantes de las respuestas hormonales o fisiológicas de los numerosos tejidos a los que llega el agonista β -adrenérgico administrado. De todos modos su efecto siempre es consecuencia de la activación de los receptores β y no de ninguna función “mágica”, como señala acertadamente Mersmann (1998). Dada la semejanza estructural de los receptores α y β adrenérgicos cabe que algún receptor α -adrenérgico sea activado (o inactivado) por un determinado agonista β . Esta posibilidad no puede excluirse por completo cuando se investigan los mecanismos *in vivo* pero es bastante improbable si se comprueba que *in vitro* el agonista carece de efectos en el receptor α .

Es posible igualmente que un agonista β -adrenérgico de una especie animal dada actúe como antagonista β -adrenérgico de otra especie y tejido (es decir, se una al receptor sin activar a la adenilciclase). Por último, es difícil medir una pequeña alteración de la velocidad de una función metabólica durante los minutos u horas que dura el experimento; un cambio muy pequeño *in vivo*, durante las semanas o meses de administración del fármaco produciría grandes cambios en el tamaño de un músculo o de un depósito graso o en toda la actividad de un órgano.

Musculatura esquelética. Uno de los efectos más llamativos del suministro oral de agonistas β -adrenérgicos al ganado vacuno, porcino y ovino es el aumento de la masa muscular. Puesto que el crecimiento post-natal del músculo esquelético es, en parte, consecuencia de su hipertrofia, cabe esperar que se deba al aumento de la síntesis de proteína muscular, a la disminución

de la degradación o hidrólisis de la misma, o a una combinación de las dos, estimulada por el agonista β -adrenérgico. Estos aspectos los han tratado con gran detalle, entre otros, Kim y Sáinz (1992) y Sáinz y colaboradores (1993).

Tejido adiposo. Otro efecto de la administración oral de agonistas adrenérgicos es la disminución de la grasa de las canales de los animales de abasto. Los agonistas estimulan *in vitro* la degradación del triacilglicerol en células y tejidos obtenidos de varias especies animales e inhiben la síntesis de los ácidos grasos con el glicerol. No obstante, con ciertos agonistas y con adipocitos de determinadas especies se han obtenido resultados negativos. Hasta los agonistas que disminuyen el contenido graso animal al administrarlos con el pienso y que se unen a los β -receptores *in vitro*, en ocasiones apenas afectan a los adipocitos de la misma especie (Mills y Mersmann, 1995). El aumento de la concentración plasmática de los ácidos grasos sin esterificar, después de suministrar *in vivo* a los animales un agonista β -adrenérgico, sugiere la activación del sistema lipolítico del adiposito.

En los cerdos y en las vacas algunos β -agonistas elevan mucho la concentración plasmática de ácidos grasos sin esterificar. En las últimas y en las ovejas la respuesta a la administración crónica de agonistas no es tan clara. En síntesis y como señalan Oksbjerg y colaboradores (1996), los efectos de los β -agonistas en el tejido adiposo no son tan persistentes como en el muscular y en algunos casos resultan contradictorios.

Mersmann (1998) ha resumido magistralmente los distintos aspectos que aquí hemos tratado. Afirma que los agonistas β -adrenérgicos suministrados *per os* con el pienso estimulan los receptores β -adrenérgicos, aumentan la masa muscular y disminuyen el contenido graso de las canales de terneros, lechones, pollos y corderos. Puesto que los receptores β -adrenérgicos se encuentran en casi todas las células de los mamíferos, su mecanismo de acción, como promotores del crecimiento, es muy complejo. Con independencia de esta complejidad, el mecanismo de acción de un β -agonista adrenérgico en particular, en una determinada especie animal, implica su unión directa a los receptores β -adrenérgicos de la superficie de las células musculares y adipocitos. Las distintas especies animales muestran diferencias en la estructura y farmacología de los receptores β -adrenérgicos, en los subtipos que de los

mismos se encuentran en los diferentes tejidos y en el metabolismo y distribución de los diferentes agonistas β -adrenérgicos.

Además los β -agonistas poseen otros mecanismos de acción *in vivo*, menos directos, que contribuyen a los efectos que ejercen cuando se administran oralmente. Las personas interesadas en estas acciones deberían consultar las publicaciones de Zimmerli y Blum (1990), Yen y colaboradores (1991) y Thomas y colaboradores (1994).

β -AGONISTAS ADRENÉRGICOS Y METABOLISMO.

Los efectos de los β -agonistas en el metabolismo de las grasas son difíciles de definir: Por una parte, actúan *indirectamente* en la deposición grasa, al aumentar la velocidad metabólica y el gasto energético de los animales tratados y al disiparse con la termogénesis parte de la energía ingerida se evita la formación de grasa y por otra tiene lugar un *efecto directo* basado en el aumento de los niveles de AMP cíclico en el tejido adiposo. Como se indica más atrás, el ATP se transforma en AMP cíclico que activa la proteína-quinasa que por fosforilación estimula a una lipasa intracelular que transforma los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol. Por lo tanto aumenta la lipólisis y disminuye la lipogénesis. La importancia relativa de ambos efectos es difícil de cuantificar ya que los valores finales varían bastante en las pruebas *in vitro* e *in vivo* así como con el tipo de β -agonista utilizado y dosis empleada. También depende de la especie animal (Mersmann, 1989). La disminución de la lipogénesis no es tan clara, a pesar de que en algunos rumiantes se haya observado una menor producción de ácidos grasos a partir del acetato. De todas formas la caída de la lipogénesis es siempre menor que el aumento de la lipólisis.

Por lo que se refiere al metabolismo protéico, los animales tratados con β -agonistas, en comparación con los testigos sin tratar, aumentan la retención de nitrógeno. Un detalle digno de mención es que de todos los efectos ejercidos por los β -agonistas en los animales de abasto el que más persiste es el ejercido en las proteínas musculares. Como ya se ha señalado más atrás, aumenta la musculatura esquelética debido a la hipertrofia de las fibras musculares. La hipertrofia muscular se aprecia especialmente en los llamados

“músculos blancos” que abundan más en el cuarto trasero que en otras regiones. Por lo tanto se deja sentir más en los cortes comerciales de carne más apreciados (Sanz, 1995). La destrucción catabólica muscular disminuye al inhibirse las enzimas proteolíticas de los liposomas.

Los β -agonistas se conocen coloquialmente como “repartidores de energía” y “agentes de reparto” porque derivan los nutrientes energéticos del tracto gastro-enterico y del tejido adiposo a la síntesis láctea y a la hipertrofia muscular.

Factores que influyen en los efectos de los β -agonistas.

Las características farmacodinámicas y farmacocinéticas de los fármacos, incluidos los β -agonistas, se ven influenciadas por una serie de factores que influyen o modifican sus acciones, entre ellos, especie animal, raza, edad, forma y ruta de administración del producto, dosis, estabilidad en el pienso, etc. (Mersmann, 1998).

Cada *especie animal* varía en la distribución, especificidad y densidad de los receptores β celulares lo que depende fundamentalmente: 1) de la actividad lipolítica potencial de cada raza, 2) de la sensibilidad a la insulina y 3) de la variación en número y localización de los receptores. Respecto de la *edad* algunos investigadores admiten que el efecto de los β -agonistas es menor en los animales más jóvenes ya que poseen menor número de receptores que los adultos. Otros piensan que el mayor efecto en los animales viejos se debe a una menor secreción de hormona del crecimiento. También se ha visto, por lo que se refiere a la *alimentación*, que hay una interacción positiva entre β -agonistas y ración alimenticia hiperprotéica a la que generalmente se someten los animales de abasto antes de su sacrificio. En relación con el *tiempo de exposición* se ha visto que prolongar el suministro de β -agonistas disminuye mucho los receptores β de las células por lo que se saturan pronto. De aquí que se haya afirmado que a mayor tiempo de exposición, menor efecto (López Bote y col., 1987). En la *tabla 3* se indican de forma resumida los efectos más sobresalientes de los β -agonistas en las especies de abasto.

Administración y empleo.

La ventaja práctica del empleo de los β -agonistas como agentes de reparto estriba en que son activos *per os* y por ello pueden utilizarse mezclados con el pienso. En ocasiones también se aplican como implantes subcutáneos de liberación retardada. Se han suministrado a terneros, corderos, cerdos y aves a dosis de 5-10 veces mayores que las terapéuticas ($0,8 \mu\text{g/kg}$ de peso vivo), esto es, unos $5 \mu\text{g/kg}$ dos veces al día, lo que equivale en el pienso a 0,25-10 ppm, dependiendo de la especie animal y del compuesto empleado. La dosis para cerdos es de 1 ppm en el pienso, en los corderos de 2 ppm y en los terneros de 2-4 ppm. En cambio la dosis de cimaterol para los últimos es de 5 ppm.

TABLA 3

Aumento (en porcentaje) del rendimiento de las especies de abasto tratadas con beta-agonistas.

Determinaciones	Vacunos	Lanares	Porcinos	Aves
Ganancia de peso	5	15	5	2
Ingesta de pienso	-9	-2	-3	-1
Eficacia del pienso	15	15	6	2
Rendimiento a la canal	6	6	1,5	1
Grasa de riñonada	-35	-30	-15	—
Carne magra de la canal	15	10	7	2
Grasa de la canal	-30	-25	-25	-7
Superficie del <u>M. dorsi</u>	40	25	8	—

* De Peters (1989). Vet. Rec., April 22nd, 417:420

Según Heinrich y col. (1991) la absorción del clenbuterol es rápida; entre 20-60 minutos después de administrado por vía oral ya se detecta en el

plasma. A las 7 horas alcanza una meseta de 0,5 ng/ml el primer día, el tercero llega a 7 ng/ml y el día 21 todavía alcanza 1,1 ng/ml. Las concentraciones urinarias son unas 40 veces mayores que las plasmáticas. La eliminación del clenbuterol por la orina es muy rápida al principio (10 horas de semivida), pero después se lentifica mucho (2,5 días de semivida aproximadamente).

La concentración de clenbuterol en los ojos de los animales tratados con este agonista (*tabla 4*) es unas 107 veces mayor que la del plasma de los mismos animales (1,1 ng/ml, de media) a los 21 días después de su aplicación. La eliminación del clenbuterol de los ojos es muy lenta: después de 3,5 días de suspendido el tratamiento todavía permanecía en los ojos un 49% de la concentración presente antes de la retirada del agonista y a los 14 días de suspensión persistía todavía un 13%. Por ello Heinrich y colaboradores escribieron en 1991: "...los resultados negativos de los análisis de los ojos garantizan, casi con toda certeza, que los tejidos comestibles carecen de residuos."

TABLA 4

Contenido de clenbuterol de diversos órganos bovinos

Órgano	Sin suspensión medicamentosa	A los 14 días de retirada el clenbuterol
Pulmón	76 ng/g	< 0,08 ng/g
Hígado	46 ng/g	0,6 ng/g
Ojo	118 ng/g	15,1 ng/g

Efectos de los β -agonistas en las especies de abasto

Son muchos los investigadores que han estudiado el efecto de los β -agonistas en los animales de matadero, habiéndose observado ciertas diferencias debidas a variaciones metabólicas específicas. También han

comprobado que las hembras son más sensibles a los efectos de los agonistas que los machos enteros o castrados. Generalmente modifican la composición de la canal al disminuir su contenido graso y aumentar su masa muscular. Además los animales vivos aumentan su ganancia ponderal y el índice de conversión del pienso en carne (Cruz, 1990).

En porcinos. Cuando se añade al pienso 1 ppm de clenbuterol la ganancia en peso de los cerdos mejora aproximadamente un 10%, el índice de conversión casi un 10%, la retención de nitrógeno sobre un 25% y la carne magra de la canal un 2%; al mismo tiempo la grasa disminuye un 3% aproximadamente y el peso del pernil se incrementa otro 10%. Todos estos valores corresponden al final del periodo de engorde. Con el cimaterol se han alcanzado resultados similares.

El salbutamol incrementa el peso en un 8%, mejora un 10% el índice de conversión del pienso y la carne magra de la canal en un 2-3%, lo que se acompaña de una disminución de la grasa: el grosor del tocino dorsal disminuye un 20% y la grasa total de 6 a 11%. Los efectos de la ractopamina a una dosis de 20 ppm en el pienso se traducen en un aumento de peso de casi el 15%, un incremento del índice de conversión del pienso del 20% y una disminución de la grasa del 10%.

En bovinos. El efecto de los β -agonistas varía en estos animales dependiendo de la edad (Beermann, 1994). En los lactantes ni aumenta el peso, ni mejora el índice de transformación pero hay una mayor retención de nitrógeno y un mayor rendimiento a la canal. En novillos de cebo, tanto el clenbuterol como el cimaterol mejoran el peso final y se han citado casos de hasta un 30% de aumento, lo que parece un poco exagerado; las mejoras en el índice de conversión del pienso llegan al 20%. La calidad de la canal también mejora: su rendimiento aumenta hasta un 8%, la grasa disminuye entre un 25 y un 40% y la proporción de carne aumenta. La superficie al corte transversal del músculo *L. dorsi* puede ser un 11-17% mayor.

En ovinos. Tanto con clenbuterol como con cimaterol en los corderos se han señalado aumentos del peso final de hasta el 24%, un mayor rendimiento a la canal y un aumento de hasta el 40% de la superficie de carne del lomo y de los músculos del cuarto trasero. Los depósitos subcu-

táneos y abdominales de sebo bajan de un 20 a un 27% y a veces hasta un 36% (Anderson y col., 1991).

En pollos broiler. En estos animales el cimaterol es más eficaz que el clenbuterol; su efecto es mayor al final del cebo pero los resultados son, en conjunto, inferiores a los alcanzados en los mamíferos: Un incremento del peso final no mayor del 3-4%, una mejora del índice de transformación de pienso del 3-8% y un aumento de rendimiento a la canal del 0,3%.

Modificaciones inducidas por los β -agonistas en la composición y calidad de la canal.

Como ya se ha dicho, la inclusión de β -agonistas en la ración alimenticia de los animales origina tres hechos fundamentales:

1. El aumento de la acreción de proteína en la canal (alrededor del 15%).
2. La disminución de la grasa total (un 18% aproximadamente).
3. Un aumento del contenido acuoso de la carne.

En el peso vivo de los animales tratados y testigos no se apreciaron diferencias significativas, sin embargo, mejora el rendimiento a la canal de los primeros. La hipertrofia muscular da mejor aspecto a la conformación de la canal, lo que determina un mayor valor comercial de la misma (hasta un 25% más). Ello se debe al aumento del diámetro de las fibras musculares esqueléticas del tipo II, es decir, glucolíticas. De aquí que sean especialmente afectados los músculos en los que predominan estas fibras, principalmente los del tercio posterior y el lomo.

El desarrollo muscular del cuarto trasero es muy evidente en los corderos tratados con β -agonistas y la superficie de corte del *L. dorsi* a nivel de la 12^a-13^a costilla está aumentada en una proporción que varía con la raza, con el β -agonista utilizado y con la dosis. Ni la longitud de los huesos ni la canal, como un todo, se ven afectadas al tratar los animales con β -agonistas.

La disminución de la grasa se deja sentir en el depósito subcutáneo y en los acúmulos renales, pelvianos y cardíacos. La grasa intramuscular

aunque también disminuye lo hace en menor grado, gracias a lo cual la carne presenta una palatabilidad comparable a la de los animales sin tratar. Otra consecuencia de la pérdida parcial de grasa intramuscular es el aumento de la resistencia de la carne a la cizalladura, determinada por el aparato de Warner-Blatzer. Cuando la disminución de la grasa intramuscular es mayor de 2,5% se aprecia en la carne más dureza a la masticación (Chwalibog y col., 1996).

En los animales tratados con β -agonistas están disminuidos los niveles de glucógeno muscular por lo que la caída del pH de la carne *post-mortem* no baja tanto como la de los animales sin tratar. Esto influye de dos formas en la capacidad de retención de agua de la carne; de una parte a mayor pH mayor carga neta y por tanto, mayor porcentaje de agua inmovilizada, pero de otra si el pH no baja suficientemente no se liberan catepsinas, enzimas responsables de la acción proteolítica, por lo que el músculo seguirá ligando agua durante su conversión en carne. Por ello en algunas pruebas realizadas con ganado vacuno se ve los primeros 6 días un aumento significativo del goteo de las canales de los animales tratados con cimaterol. La jugosidad de la carne no es afectada significativamente por los β -agonistas ingeridos por los animales que la produjeron.

INTOXICACIONES HUMANAS POR LA INGESTIÓN DE HÍGADO DE ANIMALES TRATADOS CON CLENBUTEROL

Los primeros casos de intoxicación humana por el consumo de hígado de animales tratados con clenbuterol son posiblemente los que acaecieron en 1989 en las provincias de Córdoba y Vizcaya en los meses de octubre y noviembre (Anónimo, 1990). Sin embargo el brote más llamativo fue el que se extendió de marzo a junio de 1990 por 8 comunidades autónomas y afectó a 43 familias con un total de 135 casos.

Desde entonces todos los años se han detectado en los mataderos españoles algunos animales tratados con β -agonistas e incluso se llegó a descubrir algún laboratorio clandestino de fabricación de clenbuterol (Sanz, 1995). El brote de 1990, perfectamente descrito por el *Boletín Epidemiológico Semanal*, del Centro Nacional de Epidemiología del Instituto

de Salud “Carlos III”, se debió al consumo de hígado de vacuno de animales tratados con clenbuterol y se caracterizó por la aparición brusca, después de un periodo de latencia de media a seis horas, de un cuadro clínico muy típico: los enfermos presentaban palpitaciones, taquicardias que se acompañaban frecuentemente de nerviosismo, cefalea y mialgias. Este cuadro tenía una duración media aproximada de 40 horas (rango 8-96 horas), tuvo un pronóstico leve y no produjo defunción alguna, ni efectos nocivos colaterales. Los principales síntomas de intoxicación son los que se indican en la *tabla 5*. Los dos brotes principales se situaron en dos territorios epidémicos distintos, el primero, que tuvo lugar del 22 de marzo al 4 de abril, se localizó en Asturias, León y Palencia y el segundo en Madrid y Toledo, del 22 de mayo al 17 de junio. Además de las provincias citadas, también presentaron casos aislados otras seis más.

En enero – febrero de 1992 aparecieron nuevos brotes de intoxicación en Cataluña, País Vasco y Mallorca, con un total de 200 casos, lo que convierte a estos brotes en los más numerosos de cuantos se han atribuido al clenbuterol. Su sintomatología era una réplica de la descrita y la fuente del clenbuterol responsable fue doble: laboratorios clandestinos ubicados en Cataluña e importaciones ilegales de Francia y Holanda.

TABLA 5

*Síntomas de la intoxicación por consumo de hígado con Clenbuterol**

Síntoma	Frecuencia	Porcentaje
Temblores	123	91
Taquicardia	105	78
Nerviosismo	87	64
Cefaleas	71	53
Mialgias generalizadas	56	41
Mialgias periorbitales	46	34
Mareos	13	10
Náuseas	25	19
Vómitos	16	12
Astenia	22	16
Fiebre	11	8
Escalofríos	10	7

* *Bol. Esp. Semanal* n° 1859

CONTROL DE RESIDUOS DE XENOBIÓTICOS EN LOS MATADEROS.

El objetivo principal de la inspección sanitaria de la carne es garantizar que sólo lleguen al consumidor productos salubres, es decir, los que reúnen unas condiciones higiénico sanitarias que los hacen “aptos para el consumo”. La incapacidad de la inspección tradicional para poner de manifiesto

la presencia de residuos xenobióticos en la carne ha obligado a implantar lo que se conoce ahora como inspección integral (Goodhand, 1983). Se trata de vigilar todas las etapas de la producción cárnica, prestando más atención a las medidas preventivas y al autocontrol ganadero que a la imposición de sanciones, cuando los ensayos o análisis finales de las muestras revelan la presencia en ellas de compuestos prohibidos o que superan los niveles autorizados.

Parte fundamental de la inspección integral es el Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (APPCC). Este sistema se basa en la identificación de los peligros sanitarios asociados a cada fase del proceso productivo y en la implantación de medidas preventivas y de supervisión en cada una de ellas, de manera que toda la producción esté bajo control y no se dependa del análisis de los productos finales para asegurar la calidad de los productos terminados (NACMCF, 1993). El sistema APPCC consta de cuatro fases: (1) examen del animal *in vivo* y de las explotaciones ganaderas, (2) vigilancia del sacrificio y carnización en el matadero, (3) inspección del almacenamiento, distribución y venta y (4) manipulación en el hogar o en establecimientos de restauración.

Explotaciones ganaderas y animales vivos.

La mayor parte de los residuos de xenobióticos llegan a los animales en la propia explotación ganadera, siendo las principales fuentes de contaminación los pastos, piensos, agua de bebida y la administración de promotores del crecimiento y de medicamentos (Pullen, 1990). Por ello, el control de residuos ha de comenzar en la propia explotación, donde son fundamentales el control de calidad y composición de los piensos y del agua de bebida así como la utilización correcta de los medicamentos veterinarios. La legislación de la UE (CEE, 1995) ha establecido los productos destinados a la alimentación animal para prevenir los riesgos que pueden suponer para la sanidad animal, salud humana y medio ambiente. De aquí la necesidad de vigilar su calidad microbiológica y físico-química.

La única forma de prevenir, diagnosticar y tratar adecuadamente las enfermedades de los animales en las explotaciones ganaderas es manteniendo una vigilancia permanente de los mismos. El veterinario procu-

rá diagnosticar lo antes posible las enfermedades y elegirá los medicamentos, dosis y pautas de administración más convenientes. Asimismo controlará la correcta aplicación de los tratamientos para que los residuos de los compuestos activos de los tejidos animales cumplan las exigencias legales y no supongan ningún peligro para la salud del consumidor. Sin embargo, con demasiada frecuencia son los propios ganaderos, aconsejados por otros colegas o por personas vinculadas a la distribución de productos farmacéuticos, quienes administran a los animales todo tipo de compuestos (Buxadé, 1995).

Para evitar el uso incontrolado de medicamentos veterinarios, la legislación española y comunitaria (Presidencia del Gobierno, 1995; Directiva 90/667/CEE del Consejo de 13/12/90, DOCE L 373 de 31/12/90) exigen la emisión de la correspondiente receta veterinaria para la adquisición de medicamentos destinados a los animales de abasto. Además, los veterinarios encargados del control sanitario de la explotación llevarán un libro registro donde se detallen las fechas y naturaleza de los tratamientos prescritos y la identidad de los animales tratados así como los plazos de retirada o suspensión medicamentosa, durante los cuales no podrán sacrificarse para consumo humano. Los animales destinados al sacrificio en mataderos irán acompañados de un certificado sanitario en el que se hagan constar los datos de interés para la inspección, junto con los resultados de las pruebas realizadas en vivo para la detección de enfermedades y de residuos de sustancias tóxicas (Labie, 1993).

Para realizar un seguimiento individualizado de los animales desde su nacimiento hasta que se sacrifican en el matadero hay que disponer de un sistema eficaz de identificación animal. La Directiva del Consejo de la CEE (1992) estableció la obligación de identificar a todos los animales de abasto, mediante crotales o tatuajes, y de registrar sus movimientos o cambios de explotación. Hoy se dispone de *microchips* que llevan en su memoria un código de identificación que puede leerse con sistemas electrónicos que envían las lecturas a un ordenador conectado a una base de datos, donde se registran los referentes a la identidad del animal y otros relativos a su cría, historial clínico, medicamentos y vacunas recibidas, etc. (Paardekooper y col. 1994). Toda esta información es de gran utilidad para el matadero. Además, permite incluir en cada historia animal los

resultados de su inspección en el matadero. Así se puede conocer el estado sanitario de una explotación o zona de producción y adoptar las medidas que permitan mejorar la calidad higiénico-sanitaria de la carne producida.

Vigilancia del sacrificio y carnización.

La inspección veterinaria en el matadero sirve, entre otras cosas, para sospechar de la presencia de residuos de posibles tratamientos ilegales. Los criterios utilizados para considerar sospechoso a un animal o a un grupo de animales durante su inspección *ante mortem* y *post-mortem* incluyen los antecedentes de la explotación de que proceden, la homogeneidad del lote, el comportamiento de los animales, su conformación anatómica respecto de la raza, edad, sexo, etc. y la presencia de lesiones por implantes o inyecciones, el color y el grado de engrasamiento de la canal.

Si como consecuencia de la inspección se sospechara de la aplicación a los animales de tratamientos ilegales, se tomarían las muestras necesarias para el análisis y se mantendrían en consigna los animales y sus canales y vísceras hasta que los resultados de laboratorio confirmen o desestimen la sospecha (Pullen, 1990). La utilización en el matadero de técnicas rápidas de análisis, como las inmunológicas, visualizadoras de imágenes, equipos automatizados y otros, permite una mejor selección de los animales sospechosos (Ellis, 1994).

Inspección del almacenamiento, distribución y venta.

Si bien la mayoría de los residuos llegan a la carne antes del sacrificio de los animales, también puede contaminarse durante el almacenamiento, distribución y venta. Durante estas operaciones puede contaminarse superficialmente con una gran variedad de productos tóxicos, como detergentes, desinfectantes, lubricantes de la maquinaria, fugas de los agentes refrigerantes, combustibles y productos de combustión de motores, etc.

Muchos de estos compuestos originan alteraciones llamativas en las características organolépticas de la carne, mientras otros pasan inadvertidos para el consumidor. De aquí que se procure en todo momento evitar que la carne contacte con tales productos (García y col., 1997).

Medidas complementarias.

Otras medidas que contribuyen a reducir la presencia de residuos en los productos cárnicos son:

- a) La creación de bases de datos que proporcionan información farmacológica y de normas legales sobre medicamentos, agentes de limpieza y desinfección de locales y otros compuestos químicos.
- b) La elaboración de programas de formación continuada de ganaderos y otras personas implicadas en la producción cárnica.
- c) El establecimiento de convenios en la Administración estatal o autonómica y la industria cárnica para fomentar la implantación de controles voluntarios que detecten la presencia de residuos en la carne.

A estas bases o bancos de datos se recurre para consultar sobre las condiciones de utilización de ciertos fármacos, sobre límites máximos de residuos autorizados, o sobre los periodos de suspensión o retirada medicamentosa aplicables después de la administración irregular de un fármaco (dosis diferentes o especies animales distintas de las indicadas en prospectos y *vademeca*), o de un contacto involuntario con ciertas sustancias (Riviere, 1991).

En la actualidad tanto los EEUU como la UE cuentan con bancos de datos de este tipo que pueden consultarse por Internet. El del Comité de Medicamentos Veterinarios de la Unión Europea se basa en los informes toxicológicos de dicho comité para establecer los límites máximos de residuos autorizados de los productos que interesan a la sanidad animal. También se puede consultar el FARAD (*Food Animal Residue Avoidance Databank*) elaborado por el Departamento de Agricultura de los EEUU (USDA), al que se accede en la dirección <http://www.reeusda.gov/agsys/adds/farad.hatm>.

El objetivo de los programas de formación continuada es instruir a los ganaderos en las prácticas correctas de higiene animal y en el manejo de los animales y mostrarles las situaciones en las que podrían originarse residuos; se hará énfasis en los beneficios de la aplicación de medidas preventivas y no sólo correctoras de la salud animal (Brett, 1955).

Otra medida interesante en el terreno de la prevención de residuos en la carne es el establecimiento de convenios entre la Administración y los ganaderos, en los que éstos asuman voluntariamente garantizar una carne libre de residuos a cambio de que se les permitirá hacerlo constar en el etiquetado. Dentro de estas actuaciones se encuentran las llamadas *denominaciones o marcas de calidad* cuya implantación está alcanzando gran éxito en la UE debido a que los consumidores están dispuestos a pagar un precio superior por un producto que ofrezca una mayor garantía de calidad (Lister, 1995). La producción de carne protegida por una marca de calidad implica el cumplimiento de unas condiciones dirigidas a garantizar la obtención de un producto homogéneo, seguro y agradable a un coste razonable.

Los Consejos Reguladores de cada denominación o marca de calidad exigen y controlan el cumplimiento de las normas establecidas, tanto por parte de los ganaderos, como de los mataderos, salas de despiece y establecimientos de venta. No obstante, los veterinarios oficiales puede visitar las explotaciones sin previo aviso, reconocer a los animales y tomar muestras aleatorias para investigar la presencia de residuos. En Europa hay actualmente muchas marcas de calidad, cada una con su reglamento específico.

PLAN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN DE RESIDUOS (PNIR)

El control eficaz de los residuos de la carne requiere la existencia de un marco legal de referencia que establezca los criterios a seguir. Esto es lo que hace la Directiva 96/23/CE (1996) que contiene las directrices elaboradas por las autoridades sanitarias de la UE en materia de inspección de residuos. Señala las sustancias objeto de investigación y las estrategias de muestreo para el control de residuos en los animales de abasto y en sus carnes, en las aves de corral, en los animales de acuicultura, en la

carne de conejo y de caza y en la leche, huevos y miel. Asimismo designa un laboratorio comunitario de referencia para cada grupo de sustancias objeto de investigación y las medidas aplicables cuando se detecten compuestos no autorizados o se superen los límites máximos de residuos permitidos (LMR). Las sustancias objeto de investigación se dividen en dos grupos o categorías:

- Grupo A, trata de los anabolizantes y sustancias no autorizadas; comprende los estilbenos, sus derivados, sales y ésteres; los antitiroideos, hormonas esteroides, lactonas del ácido resorcílico (incluido el zeranol), los β -agonistas y las sustancias que debido a su peligrosidad, como los nitrofuranos y el cloranfenicol, no se les puede asignar un número máximo de residuos en los alimentos de origen animal.
- Grupo B, incluye los medicamentos veterinarios y otras sustancias y contaminantes ambientales. La vigilancia de los medicamentos veterinarios se realiza para conocer si los tratamientos se han aplicado correctamente o si, por el contrario, no se han respetado las dosis y periodos de espera o retirada necesarios para eliminar los residuos de los tejidos animales. Las sustancias antibacterianas constituyen un apartado independiente dentro del grupo de medicamentos veterinarios, debido a su amplia utilización. Otros medicamentos que se citan son antihelmínticos, anticoccidianos, carbamatos y piretroides, tranquilizantes y antiinflamatorios no esteroides.

En un tercer grupo de residuos se incluyen las sustancias y contaminantes medioambientales, como compuestos organoclorados, organofosforados, elementos químicos, micotoxinas y otros. Para muchos de estos compuestos se han establecido LMR en los alimentos de origen animal.

Respecto de las estrategias de muestreo se establecen dos situaciones: 1) Cuando los servicios veterinarios sospechan que un animal, o un grupo de animales se ha sometido a un tratamiento prohibido o no autorizado y 2) cuando se administra a los animales tratamientos autorizados pero sin respetar los tiempos de retirada o de suspensión medicamentosa. En el primer caso se comprobará, como siempre, la do-

cumentación que acompaña a los animales, se levantará acta de la actuación por el veterinario oficial, se tomarán muestras por triplicado para los análisis inicial, contradictorio y dirimento y la canal o los despojos de los animales se mantendrán en consigna. En el segundo supuesto se retrasará el sacrificio para dar tiempo a la eliminación de los residuos, o bien se sacrifican los animales y su carne y despojos se declararán no aptos para el consumo si se confirma la sospecha.

Siempre que se sospeche de la administración de sustancias prohibidas se tomarán muestras para el análisis, no sólo del animal afectado sino también de los que permanezcan en su granja o explotación y de los piensos y bebidas que se suministran a los animales. Con ello se pretende averiguar la presencia de productos no autorizados y los animales a los que se administran.

La directiva establece el número mínimo de animales de los que se tomarán muestras, de acuerdo con la especie animal y el producto prohibido, si bien se autoriza a los estados miembros a que establezcan la toma de muestras como mejor se ajuste a su situación particular.

Las directivas de la UE sobre control de residuos buscan potenciar los sistemas de autocontrol de productos y demás personal del sector ganadero para que asuman una mayor responsabilidad en lo que atañe a la inocuidad y calidad de la carne ofrecida a los consumidores. Por ello no se limitan sólo a la vigilancia de la carne en el matadero, sino que exige que los estados miembros regulen las medidas necesarias para establecer en los establecimientos y granjas de cría la presencia de residuos. Los controles en estos establecimientos se extenderán, además de a los animales vivos, a sus excrementos y líquidos biológicos, al agua de bebida y a las zonas donde se albergan o mantienen los animales.

Sistemas de investigación de residuos.

Los residuos se encuentran en la carne y sus productos en concentraciones muy bajas, ng o mg/kg, pero en ocasiones no se superan ni siquiera los pg/kg, de aquí que deban utilizarse métodos de gran sensibili-

dad; aunque en los alimentos pueden encontrarse residuos muy variados, los métodos utilizados para su identificación y cuantificación son, principalmente tres: cromatográficos, inmunológicos y microbiológicos (y combinaciones de los mismos).

Para la elección del método analítico debe tenerse presente que el retraso en el dictamen del laboratorio puede ocasionar graves daños económicos ya que canales y despojos sospechosos deben esperar en consigna hasta conocer los resultados. De aquí la necesidad de obtener resultados fiables lo antes posible y siempre antes de que las canales abandonen el matadero.

Los sistemas de investigación de residuos han sido objeto de múltiples trabajos; a los lectores interesados les recomendamos la lectura de los de Ellis (1994), Calderón y colaboradores (1996), Degand y colaboradores (1996), García y colaboradores (1997) y Kuch y Ballschmiter (2000).

A MODO DE RESUMEN.

La producción animal cuenta actualmente con una tecnología apenas imaginable en la ganadería de mediados de siglo pasado. A ello han contribuido, entre otros factores, una mejor sanidad animal, la disponibilidad de razas animales selectas y especializadas en la producción de carne o leche, una alimentación ganadera más racional, mejores alojamientos y manejos animales y el empleo de fármacos y otros productos químicos (xenobióticos) que se incorporan a los piensos con fines sanitarios y para mejorar el rendimiento animal. Algunas de estas sustancias dejan residuos en sus tejidos y otras son inequívocamente peligrosas para la salud de quienes las ingieren.

De otra parte, los xenobióticos legalmente permitidos pueden ser nocivos si se emplean a dosis superiores a las autorizadas o si no se respetan sus periodos de suspensión o retirada. La UE es muy restrictiva en el empleo de estos compuestos. Además la selección genética animal no solo ha mejorado el rendimiento de los animales de abasto, sino que ha puesto a disposición de los consumidores canales animales con menores

proporciones de hueso y grasa y por tanto, más musculosas. De aquí que se piense que éste es el camino ideal que debe seguir la industria animal. De hecho ya hay asociaciones ganaderas que garantizan y ofrecen a la venta carne y productos cárnicos de gran calidad comercial y libres de residuos de xenobióticos.

La administración del Estado con la “inspección integral”, el sistema APPCC, la “trazabilidad” cárnica y el Plan Nacional de Investigación de Residuos, está poniendo orden y barreras al comercio cárnico y ganadero que tantos problemas creó en la última década.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) ALEKSHUN, M.N. Y LEVY, S.B. (2000). Bacterial drug resistance: response to survival threats. En Storz, G. y Hengge, R. (eds.). *Bacterial stress responses*. ASM Pres. Washington, D.C. Págs. 323-366.
- (2) ANDERSON, D.B., VEENHUIZEN, E.L., JONES, D.J., SCHROEDER, A.L. Y HANCOCK, D.L., (1991). The use of phenethanolamineto reduce fat and increase carcass leanness in meat animals. En Haberstroh, C. y Morris, C.E. (eds.). *Fat and Cholesterol Reduced Foods: Technologies and Strategies. Advances in Applied Biotechnology Series*. Vol 12. Págs. 43-73. The Portfolio Publishing Co., The Woodlands, USA.
- (3) ANÓNIMO (1969). Joint Committee on the use of antibiotics in animal husbandry and Veterinary Medicine. (Swann, M.M.S Committee). Her Majesty Stationary Office. London. Report, 1969. Págs 1-83.
- (4) ANÓNIMO (1990). Intoxicación relacionada con el consumo de hígado en España. *Boletín Epidemiológico Semanal*, número 1859. 22 abril - 5 mayo.
- (5) ARCH, J.R.S. Y KAUMANN, A.J., (1993). β_3 and atypical β -adrenoceptors. *Medical Research Reviews*, 13: 663-729.
- (6) AXELSON, M., KIRK, D.N., FARRANT, R.D., COOLEY, G., LAWSON, A.M. Y SETCHELL, K.D.R. (1982). The identification of the weak estrogen equol (7-hydroxy-3-4'-hydroxyphenyl chromatin) in human urine. *Biochemical Journal*, 55: 693.
- (7) BAGER, F. Y HELMUTH, R. (2001). Epidemiology of quinolone resistance in *Salmonella*. *Veterinary Record*, 32: 285-290.
- (8) BEERMAN, D.H., (1994). Carcass composition of animals given partitioning agents. En Hafs, H.D. y Zimbelman, R.G. (eds). *Low Fat Meats*. Academic Press, San Diego, USA. Págs. 203-232.

- (9) BENNET, P.M. (1995). The spread of drug resistance. En Baumberg, S., Young, J.P.W., Wellington, E.M.H. y Saunders, J.R. (eds.). *Population Genetics in Bacteria*. University Press, Cambridge. Págs. 317-344.
- (10) BEST, J.M.J. (1972). The use of trenbolone acetate implants on heifer beef production at pasture, *Veterinary Record*. 91:624.
- (11) BOUFFAULT, J.C. Y WILLEMART, J.P. (1983). Anabolic activity of trenbolone acetate alone or in association with estrogen. En Meisssonier, E. (ed.). *Anabolics in Animal Production*. Office International des Epizooties, Paris. Pág. 135.
- (12) BRETT, D.J., (1995). Quality management programs to assure meat safety in Australian domestic and export abattoirs. *Proceedings of the 41st Annual International Congress of Meat Science and Technology*. San Antonio, USA, Págs. 323-324.
- (13) BUXADÉ, C. (1995). La ganadería y la ley del medicamento veterinario. *Mundo Ganadero*, 9: 4 - 5.
- (14) CALDERÓN, V., GONZÁLEZ, J., DÍEZ, P. Y BERENGUER, J.A., (1996). Evaluation of a múltiple bioassay technique for determination of antibiotic residues in meat with standard solutions of antimicrobials. *Food additives and Contaminants*, 13: 13-19.
- (15) CALVARESE, S., RUBINI, P., URBANI, G., FERRI, N., RAMAZZA, V. Y ZUCCHI, M., (1994). Experimental administration of 19-nortestosterone and dexamethaxone in cattle: elimination of the two drugs in different biological matrices. *Analyst*, 2611.
- (16) CARATTULI, A. (2001). Importance of integrons in the diffusion of resistance. *Veterinary Record*, 32: 243-259.
- (17) CEE (1981). Directiva 81/602/CEE del Consejo de 31 de julio sobre la prohibición de determinadas sustancias de efecto hormonal y de sustancias de efecto ti-reostático. DOCE del 7-VIII-1981.
- (18) CEE (1992). Directiva 92/102/CE del Consejo de 27 de noviembre sobre identificación y registro de los animales. DOCE del 5. dic.1992.
- (19) CEE (1994). Decisión 94/936/CE por la que se modifica la Decisión 90/218/CE sobre puesta en el mercado y administración de somatotropina bovina. DOCE del 31-XII-1994.
- (20) CEE (1995). Directiva 95/53/CE del Consejo de 25 de octubre sobre principios relativos a la organización de los controles oficiales en el ámbito de la alimentación animal. DOCE del 8-IX-1995.
- (21) CEE (1996). Directiva 96/23/CE del Consejo de 29 de abril sobre medidas de control aplicables a determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y en sus productos. DOCE 23-V-1996.

- (22) CHWALIBOG, A., JENSEN, K. Y THORBEC, G. (1996). Quantitative protein and fat metabolism in bull calves treated with β -adrenergic agonists. *Archives of Animal Nutrition.*, 49: 129-167.
- (23) CRUZ, C., (1990). Controllo de residuos de clenbuterol em urina de animais de abasto. *Report de Trabalhos UNIV.*, 22: 372-378.
- (24) CUNNINGHAM, H. M., (1965). Effect of epinephrine and nicotine on protein and fat metabolism in pigs. En K. L. Blaxter (ed.). *Energy metabolism*. Academic Press. New York. Págs. 29-36.
- (25) DAVIES, J. (1994). Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, 264: 375-381.
- (26) DEBACKERE, M. (1989). Use of anabolics in beef production. *Journal of South African Veterinary Association*, 60: 71.
- (27) DIXON, S.N., (1983). The efficacy, mode of action and safety of non-steroidal, non-antimicrobial growth promoters. *Veterinary Record.*, 7: 51-62.
- (28) DODDS, E. C., GOLBERG, L., LAWSON, W. Y ROBINSON, R. (1938). Estrogenic activity of certain synthetic compounds. *Nature*. 141: 247.
- (29) ELLIS, R., (1994). Methods of detection. En Crawford, L.M. y Franco, D.A. (eds). *Animal Drugs and Human Health*, Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, USA. Págs. 43-62.
- (30) ENRIGHT, W.J. (1990). Effect of administration of somatotropin on growth, feed efficiency and carcass composition of ruminants: a review. En Sejrn, K., Vestergaard, M. Y Meimann, A. (eds). *Use of Somatotropin in Livestock Production*. Elsevier, London. Pág. 132.
- (31) ETHERTON, T.D. (1991). The role of insulin-like growth factors (IGF) and the IGF-binding proteins in growth and metabolism. En *Growth Regulation in Farm Animals*. Pearson, A.M. y Duston, T.R. (eds.). Elsevier, Londres, 1991. Pág 343 y sigs.
- (32) EVRARD, P. Y MAGHIUM-ROGISTER, G., (1987). *In vitro* metabolism of trenbolone: study of the formation of covalently bound residues. *Food Additives and Contaminants.*, 5: 59-71.
- (33) EVRARD, P. Y MAGHIUM-ROGISTER, G. Y RICO, A.G., (1989). Fate and residues of trenbolone acetate in edible tissues from sheep and calves implanted with tritium-labeled tenbolone acetate. *Journal of Animal Science*, 67: 1489-1499.
- (34) FAO (1988). Residues of some Veterinary Drugs in Animals and Foods. *FAO Food Nutr. Paper*, 41, 1. Roma.
- (35) FARBER, T.M., (1991). Anabolics: the approach taken in the USA. *Annual Research in Veterinary.*, 22: 295: 298.
- (36) FINK-GREMMELS, J. Y VAN MIERT, A.S. (1994). Veterinary drugs: disposition, biotransformation and risk evaluation. *Analyst*, 119: 2521-2534.

- (37) GALBRAITH, H., Y BERRY, A.D., (1994). Effect of naturally occurring and synthetic androgens on growth, body composition and muscle glucocorticoid receptors in wether lambs. *Animal Production*, 58: 357-369.
- (38) GARCÍA, T., HERNÁNDEZ, P.E., SANZ, B Y MARTÍN, R., (1997). Revisión: Residuos en la inspección de la carne. *Food Science and Technology International*, 3: 391-403.
- (39) GEORGE PAPADOKOU, N.H. (1993). Penicillin-binding proteins and bacterial resistance to β -lactams. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37: 2045-2053.
- (40) GIACOBINO, J.P. (1995). β_3 -adrenoceptor: An update. *European Journal of Endocrinology*, 18: 132-377.
- (41) GOODHAND, R.H., (1983). The role of meat inspection in the field of meat hygiene. *Journal of the Royal Society of Health*, 103: 11-15.
- (42) HACKBARTH, C.J. Y CHAMBERS, M.F. (1989). Methicillin-resistant Staphylococci: Genetics and Mechanism of Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 991-994.
- (43) HANCOCK, D.L., WAGNER, J.F. Y ANDERSON, D.B. (1991). Effect of strogens and androgens on animal growth. En Pearson, A.M. y Dutson, T.R. (eds.). *Growth Regulation in Farm Animals*.
- (44) HARDIN, D., BAILEY, K. Y SPAIN, J., (1995). Recombinant bovine somatotropin: What's the profit potential?. *Veterinary Record*, 90: 985-993.
- (45) HEINRICH, H.D., MEYER, D. Y RINKE, L.M., (1991). The pharmacokinetics and residues of clenbuterol in veal calves. *Journal of Animal Science*, 69: 4538-4544.
- (46) HOFMAN, B. Y EVERS, P. (1986). Anabolic agents with sex hormone-like activities: problems and residues. En Rico, A.G. (ed.). *Drug Residues in Animals*. Academic Press Inc. Orlando. Págs. 111-146.
- (47) KARG, H., MEYER, H.H., VOGT, K., LANDWEHR, M., HOFFMANN, B. Y SCHOPPER, D., (1984). Residues and clearance of anabolic agents in veal calves. En Roche, J.F. y O'Callaghan, D. (eds.). *Manipulation of Growth in Farm Animals*. Martinus Nijhoff, Boston, USA.
- (48) KIM, Y.S. Y SAINZ, R.D., (1992). β -adrenergic agonist and hypertrophia of skeletal muscles. *Life Sciences*, 50: 397-407.
- (49) KOBILKA, B. Y HOFFMAN, B.B., (1995). Molecular characterization and regulation of adrenergic receptors. En Laragh, J.H. y Brenner, B. M. (eds.). *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management* (2nd ed.). Raven Press, New York. Págs. 841-851.
- (50) KRZEMINSKI, L.F., GENG, S. Y COX, B.I., (1976). Determination of melengestrol acetate in bovine tissue: collaboratory study. *Journal of American Official Analytical Chemists*, 59: 507-526.

- (51) KUCH, H.M. Y BALLSCHMITER, K. (2000). Determination of endogenous and exogenous estrogens in effluents from sewage treatment plants at ng/l level. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 366: 392-402.
- (52) KUMAGAI, S. Y SUMIZU, T. (1982). Neonatal exposure to zearalenone causes persistent anovulatory estrus in the rat. *Archives of Toxicology*: 50: 279.
- (53) LABIE, C., (1993). Problemas en los intercambios intracomunitarios de la carne. *VI Jornadas Nacionales de Inspección y Tecnología de la Carne*. Lugo, 20-23 oct., 1993.
- (54) LAMMING, G.E., (1987). Scientific report on anabolic agents in animal production. *Veterinary Record*, 24: 389-393.
- (55) LANDSBERG, L. Y YOUNG, J.B., (1992). Catecholamines and the adrenal medulla. En Wilson, J.D. y Foster, D.W. (eds.). *Williams Textbook of Endocrinology*. W.B. Saunders, Co., Philadelphia, USA. Págs. 621-705.
- (56) LANGIN, D., TAVERNIER, G. Y LAFONTAN, M., (1995). Regulation of beta-3-adrenoceptor expression in white fat cells. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 9: 97-106.
- (57) LEVY, S.B., (1987). Antibiotic use for growth promotion in animals; ecologic and public health consequences. *Journal of Food Protection*, 50. 616-629.
- (58) LINDER, E., (1995). Toxicología de los alimentos, 2ª Ed., Editorial Acribia, Zaragoza, Págs. 96-97.
- (59) LISTER, D., (1995). The meat we eat: notions of quality for today and tomorrow. *Proceedings of the 41st Annual Congress of Meat Science and Technology*. San Antonio, USA. Págs. 3-12.
- (60) LOIZZO, A. Y MACRI, A., (1983). Toxicology of estrogens in baby foods: multiposal predictive toxicometrics of DES. En *Applications of Behavioral Pharmacology and Toxicology*. (Ed. Zbindon, G.). Raven Press. New York. Pág. 315.
- (61) LONE, K.P. (1997). Natural Sex Steroids and Their Xenobiotic Analogs in Animal Production: Growth, Carcass Quality, Pharmacokinetics, Metabolism, Mode of Action, Residues, Methods and Epidemiology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37: 93-209.
- (62) LÓPEZ BOTE, C., VENTANAS, J. Y BURGOS, J., (1987). Influencia de los esteroides gonadales y otros agentes anabolizantes, los tireostáticos y los repartidores de energía en la composición de la canal y en la calidad de la carne. *Medicina Veterinaria*, 6: 135-151.
- (63) MARTÍN, R., HERNÁNDEZ, P. E Y SANZ, B. (1992). Revisión: Residuos de tratamientos veterinarios y salud pública. *Revista española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 32: 461-480.
- (64) MCNUTT, S.H., PURWIN, P. Y MURRAY, C. (1928). Vulvovaginitis in swine. *Journal of American Veterinary Medicine Association*. 73: 484.

- (65) MERSMANN, H.J., (1995). Species variation in mechanisms for modulation of growth by beta-adrenergic receptors. *Journal of Nutrition*, 125, 1777S-1782S.
- (66) MERSMANN, H.J., (1998). Overview of the effects of β -adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. *Journal of Animal Science*, 76: 160-172.
- (67) MESTRES, R. (2001). Components químics del medi ambient i alteracions de la fertilitat. *Revista de la Real Academia de Farmacia de Catalunya*, 21: 23-38.
- (68) MEYER, H.H.D., (1991). The illegal practice and resulting risks versus the controlled use of licensed drugs: views on the present situation in Germany. *Annual Research in Veterinary*, 22, 299-307.
- (69) MICHAEL, G. Y BAULIEU, E.F. (1980). The mode of action of anabolics. En Meissonnier, E. (ed.). *Anabolics in Animal Production*. Office International de, Epizooties. Paris, Pág. 53.
- (70) MILLS, S. Y MERSMANN, H.J., (1995). Beta-adrenergic agonists, their receptors, and growth: special reference to peculiarities in pigs. En Smith, S.B. y Smith, D.R. (eds.). *The Biology of Fat in Meat Animals: Current Advances*. American Society of Animal Science. Champaign. USA. Págs. 1-34.
- (71) MOATS, W.A. (1988). Inactivation of antibiotics by heating in foods and other substrates. *Journal of Food Protection*, 51: 491-497.
- (72) NACMCF (1993). Generic HACCP for raw beef. *Food Microbiology*, 10: 449-488.
- (73) NRC (National Research Council, 1994). *Metabolic modifiers: Effects on the nutrient requirements of food producing animals*. National Academy Press. Washington, D.C.
- (74) OMS (1988). Evaluación de ciertos residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Organización Mundial de la Salud. Ginebra
- (75) OKSBJERG, N., FERNÁNDEZ, J.A., JORGENSEN, H., OLSEN, O.H., RULPH, T. Y AGERGAARD, N., (1996). Effects of Salbutamol on protein and fat deposition in pigs fed two levels of protein. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 75: 1-12.
- (76) OSTROWSKI, J.M., KJELSBERG, A., CARUM, M.G. Y LEFKOWINTZ, R.J., (1992). Mutagenesis of the β -adrenergic receptor: How structure elucidates function. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 32: 167-183.
- (77) PAARDEKOOPER, E., VAN DER HOORN, R. Y VAN DIJK, (1994). Slaughterline 2000. *Fleischwirtschaft*, 74: 162-164.
- (78) PIETRI-ROUXEL, F., LENZEN, A., KAPOOR, A., DRUMARE, F., ARCHIMBAULT, P., STROESBERG, A., MANNING, B., (1995). Molecular cloning and pharmacological characterization of the bovine β_3 -adrenergic receptor. *European Journal of Biochemistry*, 230: 350-358.

- (79) POTTHAST, K., (1993). Residues in meat and meat products. *Fleisch-wirtschaft.*, 73: 334-342.
- (80) PRESIDENCIA DEL GOBIERNO (1988). R.D. 475/1988 de 13 de mayo en el que se establecen límites máximos permitidos de las aflaroxinas β_1 , β_2 , G_1 , G_2 en los alimentos para consumo humano. B.O.E. de 20-V-1988.
- (81) PRICE, K.P. Y FENWICK, G.R. (1985). Naturally occurring oestrogens in foods. A review. *Food Additives and Contaminants*, 2: 73.
- (82) PULLEN, M.M., (1990). Residues. En Pearson, A.M. y Dutson, T.R. (eds). *Meat and Health. Advances in Meat Research*, Vol 6. Elsevier Applied Science, Londres. Págs. 63-80.
- (83) REYNOLDS, I. P. (1980). Correct use of anabolic agents in ruminants. *Veterinary Record*. 107: 367.
- (84) RICKS, C.A., BACKER, P.K. Y DARYMPLE, R. H., (1984). Use of partitioning agents to improve performances and body composition of meat animals. *Reciprocal Meat Conference Proceedings.*, 37: 5-11.
- (85) RIVIERE, J.E., (1991). Pharmacologic principles of residue avoidance for veterinary practitioners. *Journal of the American Veterinary Medical Association.*, 198: 809-816.
- (86) ROBERTS, M.C. (1996). Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiological Reviews*, 19: 1-24.
- (87) ROCHE, J.F., (1983). The use of natural steroids hormones and xenobiotics. En Meissonnier, E. (ed.). *Anabolics in animal production*. Office International des Epizooties. París.
- (88) SAINZ, R.D., KIM, Y.S., DUNASHES, F.R. Y CAMPBELL, R.G. (1993). Effects of ractopamine in pig muscles: Histology, calpains and β -adrenergic receptors. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44: 1441-1448.
- (89) SANO, M., YOSHIMASA, T., YAGURA, T. Y YAMAMOTO, I., (1993). Non homogeneous distribution of β_1 - and β_2 -adrenoceptors in various human tissues. *Life Science*, 52: 1063-1070.
- (90) SANZ, B., (1995). Problemas de Salud Pública ocasionados por el empleo en alimentación animal del clenbuterol y otros agentes promotores del crecimiento (1ª parte). *Eurocarne*, nº 37. Junio 1995. Págs. 23-34.
- (91) SANZ, B., (1995). Problemas de Salud Pública ocasionados por el empleo en alimentación animal del clenbuterol y otros agentes promotores del crecimiento (2ª parte). *Eurocarne*, nº 38. Julio-Agosto, 1995. Págs. 57-66.
- (92) SANZ, B. (1998). Residuos y contaminantes de los alimentos. En *Los residuos y sus riesgos para la salud*. Monografía V. Real Academia de Farmacia, Madrid. Págs. 125-170.

- (93) SCHWARZ, S. Y CHASLUS-DANCLA, E. (2001). Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary Record*, 32: 201-225.
- (94) SCHWARZ, S., KEREMBERG, C. Y WALS, T.R. (2001). Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17: 431-437.
- (95) SHARP, G.D. Y DYER, I.A., (1972). Zearalenol metabolism in steers. *Journal of Animal Science*, 34: 176-189.
- (96) SØRUM, H. Y SUNDE, M. (2001). Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Veterinary Record*, 32: 227-241.
- (97) STEELE, J.J. Y BERAN, G.W. (1984). Perspectives in the uses of antibiotics and sulfonamides and public health. *En Handbook series in zoonoses*. Vol 1, CRS Press, Londres.
- (98) TANNOCK, G.W. (1988). The normal microflora: new concepts in health promotion. *Microbiological Science*, 5: 4-18.
- (99) THOMAS, G.B., SCOTT, C.J., CUMMINS, J. T. Y CLARKE, I.J., (1994). Adrenergic regulation of growth hormone secretion in the ewe. *Domestic Animals Endocrinology*, 11:187-195.
- (100) Van der Wal, P. (1976). General aspects of the effectiveness of anabolic agents in increasing protein production in farm animals, in particular bull calves. *Environmental Safety Supplement*, 5: 60.
- (101) WILSON, R.C. (1994). Antibiotic residues and the public health. En Crawford, L.M. y France, A.A. (eds.). *Animal drugs and human health*. Technomic Publishing Co. Inc, Lancaster, USA. Pág. 63.
- (102) WOODWARD, K.N. (1993). Maximum residue limits. The impact of the UK and the EC legislation. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Págs. 165-172.
- (103) WRAY, C. (1986). Some aspects of the occurrence of resistant bacteria in the normal animal flora, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 18 Suppl. C: 141-147.
- (104) YEN, T.J., NIENABER, J.A. Y CROSE, J.D., (1991). Effect of ractopamine on growth, carcass traits, and fasting heat production of U.S. contemporary cross-bred and Chinese Meishan pure – and crossbred pigs. *Journal of Animal Science*, 69:4810-4822.
- (105) ZIMMERLI, U.V. Y BLUM, J.W., (1990). Acute and longterm metabolic, endocrine, respiratory, cardiac and skeletal muscle activity changes in response to perorally administered β -adrenoceptor agonist in calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 63:157-172.